



# **Università degli Studi di Napoli Federico II**

**Dottorato in Scienze Chimiche – XXI Ciclo**

**TESI DI DOTTORATO**

**Idrogeli modificati di PVA: Studio del comportamento di fase  
del PVA in presenza di sali semplici e polimeri**

**Relatore:**

*Ch.mo Prof. Claudio De Rosa*

**Coordinatore:**

*Ch.mo Prof. Aldo Vitagliano*

**Dottorando:**

*Alessandro Molisso*

**Tutori:**

*Ch.mo Prof. Roberto Sartorio*

*Ch.ma Prof. Ornella Ortona*

# INDICE

## **1 INTRODUZIONE.....6**

1.1	IL POLI VINILALCOL .....	6
1.2	IDROGELI FISICI DI PVA .....	7
1.3	TERMODINAMICA DEI POLIMERI IN SOLUZIONE.....	9

## **2 LE TECNICHE SPERIMENTALI .....26**

2.1	IL METODO INTERFEROMETRICO RAYLEIGH .....	26
2.1.1	<i>Introduzione</i> .....	26
2.1.2	<i>Descrizione del metodo</i> .....	26
2.2	SCATTERING DI LUCE .....	40
2.2.1	<i>Introduzione</i> .....	40
2.2.2	<i>Light Scattering per soluzioni binarie</i> .....	41
2.2.3	<i>“Dynamic Light Scattering” (DLS)</i> .....	43

## **3 IDROGELI DI PVA E ACIDO POLIACRILICO .....49**

3.1	INTRODUZIONE.....	49
3.2	MATERIALI E METODI .....	50
3.2.1	<i>Preparazione dei campioni</i> .....	50
3.3	RISULTATI E DISCUSSIONE.....	52
3.3.1	<i>Sistemi ternari PVA-PAA-Acqua</i> .....	52
3.3.2	<i>Misure di SANS su idrogeli misti PVA-PAA-Acqua</i> .....	57
3.3.3	<i>Microscopia ottica su sistemi ternari PVA-PAA-Acqua</i> .....	59
3.4	CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE.....	64

## **4 IL PVA E SALI SEMPLICI IN SOLUZIONE ..... 67**

4.1	INTRODUZIONE.....	67
4.2	SERIE DI HOFMEISTER .....	67
4.3	MATERIALI E METODI .....	70
4.3.1	<i>Dynamic Light Scattering (DLS)</i> .....	71
4.4	RISULTATI E DISCUSSIONE .....	75
4.4.1	<i>Esperimenti DLS: Microsfere di PVA</i> .....	75
4.5	CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE.....	96

## **5 COMPORTAMENTO DEL PVA IN SOLUZIONE IN**

## **PRESENZA DI UN POLIMERO NON CARICO .....99**

5.1	INTRODUZIONE.....	99
5.2	MATERIALI E METODI .....	99
5.2.1	<i>Diagramma di fase PEG8000-PVA a 25°C</i> .....	100
5.2.2	<i>Determinazione delle “tie line”</i> .....	102

5.2.3	<i>Determinazione di concentrazioni incognite utilizzando l'interferometro di Rayleigh</i>	104
5.3	RISULTATI E DISCUSSIONE .....	110
5.3.1	<i>Diagramma di fase PEG8000-PVA a 25°C.</i> .....	110
5.3.2	<i>Determinazione di concentrazioni incognite utilizzando l'interferometro di Rayleigh</i>	111
5.3.3	<i>Determinazione di parametri d'interazione di Flory-Huggins</i> .....	113
5.4	CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE .....	117
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONI</b> .....	<b>119</b>
<b>7</b>	<b>APPENDICE A</b> .....	<b>122</b>
	<b>INTERFEROMETRIA RAYLEIGH PER LA DETERMINAZIONE DEI COEFFICIENTI DI DIFFUSIONE</b>	
	.....	122
7.1	INTRODUZIONE .....	122
7.2	IL DIFFUSIOMETRO DI GOSTING .....	122
7.3	ESPERIMENTI AL DIFFUSIOMETRO DI GOSTING .....	127
7.3.1	<i>Scansione della linea di base</i> .....	127
7.3.2	<i>Formazione dello strato limite</i> .....	129
7.3.3	<i>Scansione della frazione di frangia</i> .....	131
7.3.4	<i>Scansione dell'immagine di diffusione</i> .....	132
7.3.5	<i>Analisi dei Dati</i> .....	133
7.3.6	<i>Analisi dei sistemi multicomponente</i> .....	136
7.3.7	<i>Instabilità dello strato limite</i> .....	137
<b>8</b>	<b>APPENDICE B</b> .....	<b>139</b>
	BINODALPEG .....	139
	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>147</b>

## **PREMESSA**

In un periodo relativamente recente, i polimeri si sono affermati prepotentemente nel campo della realizzazione di sistemi per il rilascio controllato di sostanze di interesse farmacologico a causa della loro capacità di formare aggregati supramolecolari di dimensioni e forma variabili. Nati inizialmente come frutto di una “arte empirica” i sistemi utilizzati come agenti di rilascio hanno beneficiato delle conoscenze sempre più ampie acquisite dalla chimica dei colloidali e di metodologie di indagine strutturale sempre più raffinate e sensibili.

In questo contesto il poli(vinilalcol), grazie alle sue straordinarie caratteristiche, gioca un ruolo molto importante. A tale scopo, la comprensione dei meccanismi che governano l'aggregazione delle molecole di questo polimero ha un ruolo fondamentale per la realizzazione di sistemi di rilascio sempre più complessi e raffinati. In questo lavoro verranno studiati sistemi ternari di PVA e l'effetto di molecole perturbanti sul comportamento di fase del polimero.

Nel Capitolo 1 verrà brevemente illustrato il contesto teorico nel quale questo lavoro è svolto. Nel Capitolo 2 saranno introdotte le tecniche sperimentali alla base di questo studio. Nei Capitoli 3, 4 e 5 saranno presentati i sistemi studiati.

## **CAPITOLO 1**

# 1 Introduzione

## 1.1 Il poli vinilalcol

Il poli(vinilalcol), (PVA), atattico è il polimero idrosolubile sintetico più prodotto negli Stati Uniti ed in Giappone<sup>[1]</sup>, a causa delle svariate potenzialità applicative che vanno dall'impiego nell'industria tessile alla produzione di membrane per gli imballaggi. Tra le principali caratteristiche del PVA va menzionato il carattere semicristallino nonostante la sua scarsa stereoregolarità, ed una forte tendenza a formare legami idrogeno intra ed intermolecolari a causa della massiccia presenza dei gruppi  $-OH$  sulle sue catene. Inoltre, sotto opportune condizioni, le soluzioni acquose di PVA possono dare luogo alla formazione termoreversibile di idrogeli<sup>[2]</sup>, <sup>[3]</sup>. Fin dai primi lavori pionieristici di Pines and Prins<sup>[4]</sup>, è stato proposto che la separazione di fase delle soluzioni acquose di PVA in una fase più ricca di polimero ed un'altra più ricca di solvente fosse alla base della formazione di idrogeli in soluzioni acquose diluite. Komatsu<sup>[5]</sup>, investigando la relazione tra la gelificazione e la separazione di fase delle soluzioni acquose di PVA in un ampio intervallo di concentrazioni e temperature, ha ottenuto un diagramma di fase, trovando che la formazione dell'idrogelo è determinata dalla segregazione di fase. Consistentemente con i risultati di Pines e Prins, la gelificazione parte con la formazione di legami idrogeno seguita dalla cristallizzazione di parte delle catene di PVA<sup>[6]</sup>, <sup>[7]</sup>. Il ruolo della separazione di fase liquido-liquido nella gelificazione del PVA è stato anche investigato da Wu<sup>[8]</sup>, <sup>[9]</sup> che ha descritto la struttura degli idrogeli di PVA in termini di un insieme di due fasi: una più ricca ed un'altra più

povera di polimero. La dimensione dei domini ricchi di polimero è dell'ordine dei  $\mu\text{m}$  ed è responsabile dell'aspetto opaco degli idrogeli di PVA.

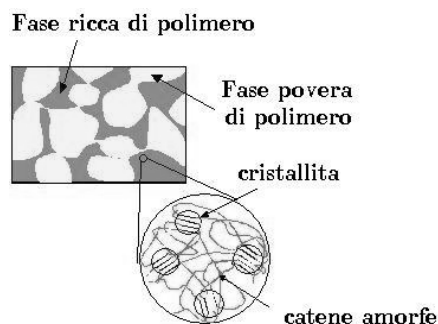
Un metodo comunemente impiegato per preparare gli idrogeli di PVA consiste nell'aggiungere ad una soluzione acquosa di polimero sostanze addizionali come il dimetilsolfossido (DMSO). L'organizzazione strutturale degli idrogeli così ottenuti è stata indagata da Kanaya e Takeshita mediante misure di scattering neutronico ad alti<sup>[10], [11]</sup> e bassi angoli<sup>[10], [13]</sup>, e mediante esperimenti di light scattering<sup>[11], [12], [14]</sup>. Gli studi di questi autori hanno mostrato che l'idrogelo consiste di piccole regioni cristalline (cristalliti) le cui dimensioni lineari sono dell'ordine di  $\sim 70\text{\AA}$ , e le distanze dell'ordine di 150-200  $\text{\AA}$ . Inoltre questi idrogeli posseggono un'organizzazione supramolecolare dovuta alla presenza di domini ricchi in polimero, la cui dimensione è dell'ordine di qualche  $\mu\text{m}$ .

## **1.2 Idrogeli fisici di PVA**

Recentemente si è cominciato a produrre gli idrogeli di PVA mediante un metodo innovativo, che consiste nel sottoporre una soluzione acquosa binaria di PVA a dei cicli di congelamento e scongelamento, ripetuti diverse volte. Attraverso questa procedura si ottengono degli idrogeli che presentano dei vantaggi rispetto alla metodica tradizionalmente utilizzata, fra i quali annoveriamo

- la semplicità di preparazione
- l'assenza dell'uso di alte temperature e di agenti chimici addizionali;
- la buona stabilità ed elasticità a temperatura ambiente;
- la capacità di mantenere intatta la forma a seguito di sollecitazioni meccaniche;
- l'insolubilità in acqua; il notevole rigonfiamento dell'idrogelo se una volta

seccato viene reimmerso in soluzione.



**Figura 1-1** La figura mostra una rappresentazione della struttura degli idrogeli di PVA, preparati con la tecnica di congelamento/scongelo. La struttura consiste di domini ricchi di polimero e domini più poveri in PVA. Le zone ricche di polimero sono formate da centri cristallini collegati da catene polimeriche allo stato amorfo.

Studi preliminari su questi idrogeli con la tecnica del congelamento/scongelo, hanno mostrato che la loro struttura, su una scala intermedia, è costituita da un network formato dalle catene di polimero che si addensano in zone cristalline (cristalliti), agenti da punti di giunzione fra le varie catene<sup>[15][16]</sup>. L'organizzazione su larga scala consiste, come nel caso della preparazione del PVA con DMSO, di domini ricchi di polimero, la cui dimensione è dell'ordine dei  $\mu\text{m}$ .

La buona biocompatibilità mostrata dagli idrogeli di PVA preparati con la tecnica del congelamento/scongelo<sup>[17]-[19]</sup>, complice l'assenza di sostanze aggiuntive impiegate nella preparazione, rende questi composti dei potenziali candidati per la realizzazione di formulazioni per il rilascio controllato di sostanze.



### 1.3 Termodinamica dei polimeri in soluzione

[20], [21] Le proprietà all'equilibrio di sistemi formati da composti polimerici, così come per sistemi formati da molecole semplici, possono essere comprese conoscendo l'Energia libera di Gibbs,  $G$ , come funzione di variabili indipendenti del sistema quali  $T$ ,  $P$  e composizione. In particolare quando si è interessati a conoscere la termodinamica di soluzioni, la quantità d'interesse è la variazione dell'energia di Gibbs nel processo di mescolamento,  $\Delta G_{mix}$  :

$$\Delta G_{mix} \equiv G - \sum_i n_i \bar{G}_i^0 \quad (1.3.1)$$

dove  $n_i$  è il numero di moli del componente  $i$ , e  $\bar{G}_i^0$  è la funzione di Gibbs molare per il componente puro  $i$  a pressione e temperatura del sistema. Quando è nota la dipendenza di  $\Delta G_{mix}$  dalle variabili indipendenti del sistema tutte le proprietà termodinamiche della soluzione possono essere derivate usando semplici relazioni termodinamiche.

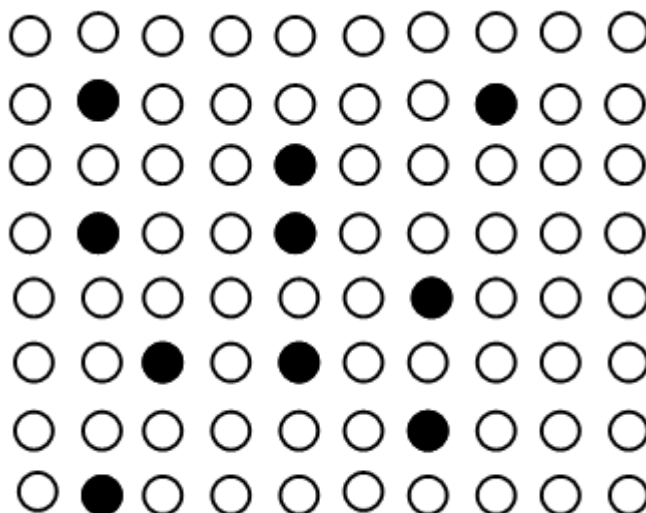
La maggior parte delle procedure teoriche per predire  $\Delta G_{mix}$  ha ovviamente inizio dalla scelta di un modello per la soluzione. Esistono differenti teorie che sostanzialmente differiscono per la natura e per la complessità del modello utilizzato, per il livello di approccio della meccanica statistica utilizzata e per la complessità delle approssimazioni matematiche che inevitabilmente sono introdotte nei calcoli.

La teoria di Flory-Huggins, sviluppata nei primi anni quaranta del secolo scorso, ha sicuramente una posizione predominante tra il gran numero di teorie di polimeri in soluzione. Tale teoria è basata sul modello del “*pseudolattice*” con un

approccio meccanico statistico piuttosto semplice e con un numero considerevole di approssimazioni. Ciò nonostante tale teoria è in grado di spiegare correttamente (almeno qualitativamente) un gran numero di osservazioni sperimentali e soprattutto serve come punto di partenza per lo sviluppo di teorie più complesse. Nel corso di questo paragrafo, le relazioni fondamentali del modello di Flory-Huggins per soluzioni polimeriche, saranno ricavate, per analogia, da quelle relative a sistemi costituiti da molecole di piccole dimensioni.

**Soluzioni costituite da molecole di piccole dimensioni.**

Si consideri una soluzione composta da due tipi di molecole A e B che hanno forma e dimensioni simili (si prendono in considerazione in questo paragrafo piccole molecole). E' possibile a questo punto immaginare la soluzione come un reticolo pseudo cristallino. Ogni molecola occupa una posizione del reticolo ed è circondata da  $z$  molecole. Tale parametro identificherà il numero di coordinazione del reticolo.



**Figura 1-2** Schema di posizionamento di molecole di soluto di piccole dimensioni in un “pseudolattice” costituito da molecole di solvente di piccole dimensioni.

E' possibile studiare la variazione di entropia di mescolamento  $\Delta S_{mix}$  procedendo con semplici valutazioni statistiche. In accordo con la meccanica statistica è possibile riscrivere l'entropia di un sistema come somma delle varie componenti:

1. Entropia relativa ai gradi di libertà esterni (gradi di libertà traslazionali)
2. Entropia relativa ai gradi di libertà interni (rotazione e vibrazione delle molecole)
3. Entropia relativa alle interazioni intermolecolari
4. Entropia configurazionale

Per questa trattazione verrà assunto che i primi tre contributi all'entropia del sistema siano gli stessi prima e dopo il mescolamento. L'unico contributo, quindi, al  $\Delta S_{mix}$  è dato dalla variazione dell'entropia configurazionale  $S_{conf}$ .

E' possibile calcolare  $S_{conf}$  utilizzando la relazione di Boltzmann:

$$S_{conf} = k \ln W \quad (1.3.2)$$

dove  $k$  è la costante di Boltzmann e  $W$  è il numero dei possibili stati microscopici che il sistema può assumere. In tale relazione è implicitamente assunto che la disposizione delle molecole in ogni singolo stato sia assolutamente casuale. In altre parole, in questo contesto,  $W$  è semplicemente il numero di modi in cui è possibile posizionare  $N_A$  molecole del componente  $A$  in  $N_A + N_B$ . In accordo con la formula combinatoria:

$$W = \frac{(N_A + N_B)!}{N_A! N_B!} \quad (1.3.3)$$

Usando l'approssimazione di Stirling e tenendo presente che la frazione molare

$x_i = \frac{N_i}{N_{tot}}$ , che  $N_{tot} = \sum_i N_i$  e che  $n_i = \frac{N_i}{N_{av}}$  ( $N_{av}$  è il numero di Avogadro) otteniamo:

$$S_{conf} = -R(n_A \ln x_B + n_B \ln x_B) \quad (1.3.4)$$

dove  $R = N_{av} k$  è la costante dei gas.

Per definizione  $\Delta S_{mix}$  è la differenza tra l'entropia del sistema e l'entropia dei componenti puri. Per quanto detto precedentemente l'unico contributo alla variazione dell'entropia del sistema è da attribuirsi all'entropia configurazionale.

Tuttavia per componenti puri c'è solo un modo di posizionare  $N_i$  molecole indistinguibili della specie  $i$  nelle  $N_i$  posizioni di un reticolo. Risulta quindi:

$$\Delta S_{conf} = -R(n_A \ln x_B + n_B \ln x_A) \quad (1.3.5)$$

Anche per calcolare l'entalpia di mescolamento,  $\Delta H_{mix}$ , questa verrà riscritta come somma delle componenti:

1. Entalpia relativa ai gradi di libertà esterni ed interni
2. Entalpia relativa all'interazioni intermolecolari

Come nel caso dell'entropia di mescolamento il primo termine verrà considerato indipendente dal processo di mescolamento.

Le interazioni intermolecolari sono conseguenza delle cosiddette forze di dispersione. Gli elettroni muovendosi all'interno delle molecole producono una fluttuazione dei dipoli di tutte le molecole polari e non polari. Le molecole polari inoltre posseggono un dipolo permanente. Entrambi i tipi di dipoli inducono dipoli nelle molecole vicine. I dipoli indotti sono attratti dai dipoli originali e l'attrazione fa diminuire l'energia del sistema. L'energia ha un minimo quando le forze repulsive tra le molecole e le forze dispersive sono bilanciate. La diminuzione nell'energia del sistema è chiamata energia di interazione. Questa energia è maggiore per le molecole polari rispetto a quelle non polari.

L'energia di interazione di una sostanza  $i$  è espressa in termini di *densità di energia coesiva*,  $e_i$ , definita come l'energia necessaria per separare le molecole in un millilitro di liquido. Tale grandezza è sperimentalmente ottenuta attraverso la vaporizzazione utilizzando tale relazione:

$$e_i = \frac{(\Delta H_{vap,i} - RT)}{V_i} \quad (1.3.6)$$

Il termine  $RT$  riflette il lavoro di volume compiuto durante la vaporizzazione e  $V_i$  è il volume molare del liquido. Le forze dispersive variano con la sesta potenza della distanza tra i due dipoli. Il valore, quindi, di tali forze è significativo solo quando le due entità interagenti sono in diretto contatto, risulta, quindi ragionevole ascrivere un valore di energia di interazione ad ogni contatto intermolecolare (o ad ogni contatto di atomi o gruppi atomici che non sono mutuamente legati).

Nel modello dello “*pseudolattice*” ogni molecola ha  $z$  punti di contatto con le molecole vicine. Ovviamente in una soluzione contenente due componenti i possibili tipi di interazione possono essere del tipo  $A-A$ ,  $B-B$  e  $A-B$ . A tali verranno assegnati valori di energia di interazioni pari a  $\varepsilon_{AA}$ ,  $\varepsilon_{BB}$  e  $\varepsilon_{AB}$ . Tutti questi valori devono essere negativi. Il modello impone che la superficie di ogni molecola sia omogenea e che qualsiasi punto di contatto sia equivalente. L'entalpia di mescolamento può quindi essere calcolata attraverso la:

$$\Delta H_{mix} = H - H_A - H_B \quad (1.3.7)$$

dove  $H$ ,  $H_A$  e  $H_B$  sono rispettivamente l'energia di contatto per la soluzione, per il componente A puro e per il componente B puro. L'entalpie per i componenti puri possono essere scritte come:

$$H_A = \frac{zN_A\varepsilon_{AA}}{2} \quad (1.3.8)$$

$$H_B = \frac{zN_B \varepsilon_{BB}}{2} \quad (1.3.9)$$

dove il fattore 2 tiene conto del fatto che due punti di contatto siano necessari per un singolo interazione. In una soluzione tutti e tre tipi di contatti descritti prima esistono. Assumendo che il numero di contatti tra molecole di tipo A e B sia  $N_{AB}$ :

$$H = N_{AB} \varepsilon_{AB} + \frac{(zN_A - N_{AB}) \varepsilon_{AA}}{2} + \frac{(zN_B - N_{AB}) \varepsilon_{BB}}{2} \quad (1.3.10)$$

da cui sostituendo nella (1.3.7) si ottiene:

$$\Delta H_{mix} = N_{AB} \left( \varepsilon_{AB} - \frac{(\varepsilon_{AA} + \varepsilon_{BB})}{2} \right) \equiv N_{AB} \Delta \varepsilon_{AB} \quad (1.3.11)$$

Dove  $\Delta \varepsilon_{AB}$  rappresenta l'energia eccesso di contatto come espresso nell'equazione.

Resta da determinare il numero di contatti  $N_{AB}$ .

$$N_{AB} = zN_A p_B \quad (1.3.12)$$

dove  $p_B$  è la probabilità che il vicino di una molecola A sia una molecola B. Di fatto la probabilità  $p_B$  è difficile da valutare, la frequenza dei differenti tipi di contatto è governata dal fattore di Boltzmann coinvolgendo le energie di contatto. Tale probabilità può essere sostituita dalla probabilità che ogni molecola in soluzione (non necessariamente una molecola vicina alla molecola A) sia una molecola B.

Tale probabilità è, ovviamente, uguale alla frazione molare del componente B. Tale sostituzione è legittimata solo quando la sistemazione delle molecole nel reticolo è completamente casuale. Questa è la stessa assunzione fatta nel calcolo di  $\Delta S_{mix}$ .

La (1.3.11) diventa:

$$\Delta H_{mix} = \frac{z\Delta\epsilon_{AB}N_A N_B}{N_A + N_B} = n_A x_B N_{Av} z\Delta\epsilon_{AB} \quad (1.3.13)$$

Il prodotto  $N_{Av} z\Delta\epsilon_{AB}$  rappresenta la variazione di entalpia accompagnata al trasferimento di una mole di A da puro a una soluzione infinitamente diluita di A in B (ovviamente anche di B in A).

Utilizzando l'equazione (1.3.5) e la (1.3.13) è possibile scrivere l'espressione del  $\Delta G_{mix}$ :

$$\Delta G_{mix} = RT \left( n_A \ln x_A + n_B \ln x_B + \frac{n_A x_B N_{Av} z\Delta\epsilon_{AB}}{RT} \right) \quad (1.3.14)$$

L'ultimo termine in questa equazione è conosciuto come parametro d'interazione

$$\chi_{AB} \equiv \frac{N_{Av} z\Delta\epsilon_{AB}}{RT} \equiv \frac{z\Delta\epsilon_{AB}}{kT} \quad (1.3.15)$$

da cui si ottiene

$$\Delta G_{mix} = RT (n_A \ln x_A + n_B \ln x_B + n_A x_B \chi_{AB}) \quad (1.3.16)$$



Tale equazione è di fatto il processore dell'equazione di Flory-Huggins. Tuttavia la (1.3.16) è applicabile solo a soluzioni con componenti a basso peso molecolare con approssimativamente lo stesso volume molare.

### **Soluzioni costituite da soluto di grandi dimensioni: modello di Flory-Huggins**

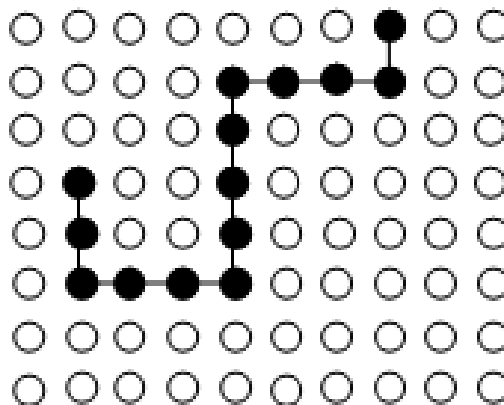
Così come descritto nelle righe precedenti la teoria prevede che ogni molecola debba occupare una posizione nello “pseudolattice”. Tuttavia se un soluto fosse una macromolecola o comunque una molecola il cui volume fosse ordini di grandezza più grande delle molecole di solvente non sarebbe possibile posizionarlo in un'unica posizione dello “pseudolattice”. Nell'ipotesi che la macromolecole presa in considerazione sia lineare è possibile immaginare quest'ultima composta da  $\sigma$  segmenti tali che:

$$\frac{V_2}{V_1} = \sigma \quad (1.3.17)$$

indicando con 1 il solvente e 2 la macromolecola. Le  $\sigma$  parti della macromolecola occuperanno altrettante posizioni consecutive dello “pseudolattice”.

Per calcolare l'entropia configurazionale dobbiamo, come fatto precedentemente, considerare il numero dei modi in cui è possibile sistemare  $N_1$  molecole di solvente ed  $N_2$  molecole di soluto in  $N_1 + \sigma N_2$  posizioni disponibili nello

“pseudolattice”. Tale calcolo a differenza del caso descritto nel precedente paragrafo non è semplice.



**Figura 1-3** Schema di posizionamento di molecole di soluto di grandi dimensioni in un “pseudolattice” costituito da molecole di solvente di piccole dimensioni.

Supponiamo di posizionare i segmenti della macromolecola uno alla volta, abbiamo a disposizione per il primo segmento  $N_1 + \sigma N_2$  posizioni differenti per il secondo, invece, soltanto  $z$  posizioni ( $z$ , descritto nel paragrafo precedente, rappresenta il numero di coordinazione del reticolo. Il secondo segmento essendo “fisicamente legato” al precedente potrà essere sistemato soltanto in una delle  $z$  posizioni identificate univocamente dalla posizione del primo segmento) per il terzo,  $z-1$  (una posizione è occupata dal primo segmento). Purtroppo non è possibile continuare questa serie in maniera semplice. Una delle  $z-1$  posizioni vicine al terzo segmento potrebbe essere occupata da uno dei segmenti posizionati precedentemente. Per risolvere questo problema bisogna ricorrere al calcolo delle probabilità. Quando, nel paragrafo precedente, è stata ricavata l’espressione dell’entropia configurazionale per un sistema solvente soluto di dimensioni

paragonabili, si è assunto che la probabilità che una posizione vicina ad una già occupata sia occupata anch'essa fosse uguale alla probabilità ogni punto dello "pseudolattice" sia occupato. Tale probabilità è ovviamente uguale alla frazione di posizioni occupate allo stadio di posizionamento in questione. Purtroppo questa assunzione ragionevole per alte concentrazioni fallisce a basse concentrazioni: nel caso di una soluzione composta da molecole di piccole dimensioni il posizionamento di una molecola è completamente indipendente dal posizionamento della precedente. Nel caso di molecole polimeriche i segmenti contigui dovranno essere posizionati in posizioni vicine dello "*pseudolattice*". Se il numero di segmenti per catena è molto alto la probabilità che la posizione vicina ad una già occupata sia anch'essa occupata è piuttosto alta anche quando la concentrazione complessiva di segmenti può essere notevolmente piccola. Quindi il numero di conformazioni possibili è sovrastimato nelle regioni a bassa concentrazione. Tuttavia nonostante tale inconsistenza la assunzione precedente dà risultati sufficientemente buoni. Inoltre è possibile notare che un polimero puro può assumere più di una configurazione. L'entropia configurazionale del polimero puro è comunemente chiamata entropia di disorientazione. Nel nostro caso, quindi, l'entropia di disorientazione, deve essere sottratta dall'entropia configurazionale della soluzione di macromolecole al fine di ottenere  $\Delta S_{mix}$  che accompagna il mescolamento di un solvente con un polimero amorfo (disorientato).

Senza ulteriori dettagli computazionali è possibile presentare l'espressione del  $\Delta S_{mix}$  per una soluzione polimerica:

$$\Delta S_{mix} = -R(n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2) \quad (1.3.18)$$

Dove le frazioni in volume  $\phi_1$  e  $\phi_2$  sono le frazioni di posizioni dello “*pseudolattice*” occupate dal solvente e da segmenti delle molecole di polimero.

$$\phi_1 = \frac{n_1}{n_1 + \sigma n_2} \quad (1.3.19)$$

$$\phi_2 = \frac{\sigma n_2}{n_1 + \sigma n_2} \quad (1.3.20)$$

Il calcolo del  $\Delta H_{mix}$  per il sistema contenente un polimero segue esattamente lo stesso procedimento descritto per molecole di piccole dimensioni. L'unica differenza sta nella probabilità  $p_2$  ( il corrispettivo della probabilità  $p_B$  nell'equazione (1.3.12)) la quale rappresenta la probabilità che una generica posizione dello “*pseudolattice*” sia occupata da una porzione di polimero. In questo caso la probabilità deve essere approssimata alla frazione in volume  $\phi_2$  e non alla frazione molare. È possibile quindi scrivere:

$$\Delta H_{mix} = n_1 \phi_2 N_{Av} z \Delta \varepsilon_{12} = RT n_1 \phi_2 \chi_{12} \quad (1.3.21)$$

dove  $\chi_{12}$  è il parametro d'interazione di Flory-Huggins definito dall'equazione (1.3.15).

Tuttavia l'equazione (1.3.21) è meno plausibile per soluzioni di macromolecole di quanto lo sia la (1.3.13) per soluzioni il cui soluto è una molecola a basso peso molecolare. Tutti i siti di contatto,  $z$  per una molecola di soluto a basso peso

molecolare, sono potenzialmente liberi e potenzialmente occupabili da molecole di solvente, nel caso di polimeri invece due dei siti di contatto per ogni segmento sono permanentemente occupati dal segmento precedente e successivo ed in realtà solo  $z-2$  sono realmente disponibili. Quindi la relazione (1.3.21) è valida solo quando la differenza tra  $z$  e  $z-2$  è trascurabile. Combinando la (1.3.18) e la (1.3.21) è possibile ottenere l'espressione dell'energia libera di mescolamento:

$$\Delta G_{mix} = RT (n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2 + n_1 \phi_2 \chi_{12}) \quad (1.3.22)$$

tale equazione è comunemente conosciuta come la relazione di Flory-Huggins.

### **Il potenziale chimico nei processi di mescolamento**

Ricordando che il potenziale chimico  $\mu_i$  in soluzione è uguale alla funzione di Gibbs parziale molare, quindi  $(\partial G / \partial n_i)_{P,T,n_{j \neq i}}$ , è possibile scrivere:

$$\mu_i - \mu_i^0 = \left( \frac{\partial \Delta G_{mix}}{\partial n_i} \right)_{P,T,n_{j \neq i}} \quad (1.3.23)$$

Sostituendo la (1.3.16), per piccole molecole di soluto, nella (1.3.23) otteniamo:

$$\frac{\mu_A - \mu_B^0}{RT} \equiv \ln a_A = \ln x_A + \chi_{AB} x_B^2 \quad (1.3.24)$$

$$\frac{\mu_B - \mu_A^0}{RT} \equiv \ln a_B = \ln x_B + \chi_{AB} x_A^2 \quad (1.3.25)$$

È facile notare che al tendere del parametro  $\chi_{AB}$  a zero (nella teoria dello “pseudolattice” ciò implica che l'entalpia di mescolamento sia nulla) le due espressioni precedenti si riducono a quelle valide per soluzioni ideali con attività  $a_i$  uguale alla frazione molare e coefficiente di attività pari a uno. Per soluzioni in cui l'entalpia di mescolamento non sia nulla l'attività ed il coefficiente di attività possono essere scritti in questo modo:

$$a_A \equiv x_A \gamma_A = x_A \exp(\chi_{AB} x_B^2) \quad (1.3.26)$$

Risulta chiaro dall'equazione (1.3.26) che processi di mescolamento endotermici, valori positivi di  $\Delta H_{mix}$  e di  $\chi$ , mostrano deviazioni positive dalla legge di Raoult. D'altra parte processi di mescolamento esotermici, valori negativi di  $\Delta H_{mix}$  e di  $\chi$ , mostrano una deviazione negativa dalla legge di Raoult.

Per quanto riguarda soluzioni di macromolecole, al fine di ottenere l'espressione del potenziale chimico del solvente, bisogna sostituire la Flory-Huggins nella (1.3.23) e tenendo presente che la frazione in volume  $\phi_i$  è funzione del numero di moli, otterremo quindi:

$$\frac{\mu_1 - \mu_1^0}{RT} \equiv \ln a_1 = \ln(1 - \phi_2) + \left(1 - \frac{V_1}{V_2}\right) \phi_2 + \chi_{12} \phi_2^2 \quad (1.3.27)$$

Ancora una volta è facile dimostrare che per valori molto piccoli di frazione in volume la quantità a destra dell'uguaglianza è uguale ad  $\ln x_1$  e il potenziale chimico è uguale al potenziale chimico del solvente di una soluzione ideale in cui il solvente abbia la stessa frazione molare. Tale risultato è ovviamente necessario, anche soluzioni di macromolecole devono obbedire alla legge di Raoult in condizioni di estrema diluizione. Come fatto precedentemente per il solvente è possibile ricavare anche l'espressione del potenziale chimico della macromolecola:

$$\frac{\mu_2 - \mu_2^0}{RT} \equiv \ln a_2 = \ln \phi_2 + \left(1 - \frac{V_2}{V_1}\right)(1 - \phi_2) + (1 - \phi_2)^2 \chi_{12} \frac{V_2}{V_1} \quad (1.3.28)$$

Per semplice estensione della procedura utilizzata per ricavare l'espressione del  $\Delta G_{mix}$  nel caso di un sistema composto da una macromolecola e dal solvente è possibile ottenere l'espressione dell'energia libera di mescolamento nel caso di un sistema composto da due macromolecole e dal solvente<sup>[22]</sup>:

$$\Delta G_{mix} = RT \left( n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2 + n_3 \ln \phi_3 + n_1 \phi_2 \chi_{12} + n_1 \phi_3 \chi_{13} + n_2 \phi_3 \chi_{23} \right) \quad (1.3.29)$$

Sostituendo la (1.3.29) nella (1.3.23) è possibile ricavare l'espressione dei potenziali chimici delle tre specie in soluzione:

$$\frac{\mu_1 - \mu_1^0}{RT} = \ln \phi_1 + (1 - \phi_1) - \phi_2 \frac{V_1}{V_2} - \phi_3 \frac{V_1}{V_3} + V_1 (\chi_{12} \phi_2 + \chi_{13} \phi_3) (\phi_2 + \phi_3) - \chi_{23} V_1 \phi_2 \phi_3 \quad (1.3.30)$$

$$\frac{\mu_2 - \mu_2^0}{RT} = \ln \phi_2 + (1 - \phi_2) - \phi_1 \frac{V_2}{V_1} - \phi_3 \frac{V_2}{V_3} + V_2 (\chi_{12} \phi_1 + \chi_{23} \phi_3) (\phi_1 + \phi_3) - \chi_{13} V_2 \phi_1 \phi_3 \quad (1.3.31)$$

$$\frac{\mu_3 - \mu_3^0}{RT} = \ln \phi_3 + (1 - \phi_3) - \phi_1 \frac{V_3}{V_1} - \phi_2 \frac{V_3}{V_2} + V_3 (\chi_{13} \phi_1 + \chi_{23} \phi_2) (\phi_1 + \phi_2) - \chi_{12} V_3 \phi_1 \phi_2 \quad (1.3.32)$$



## **CAPITOLO 2**

## **2 Le tecniche sperimentali**

### **2.1 Il metodo interferometrico Rayleigh**

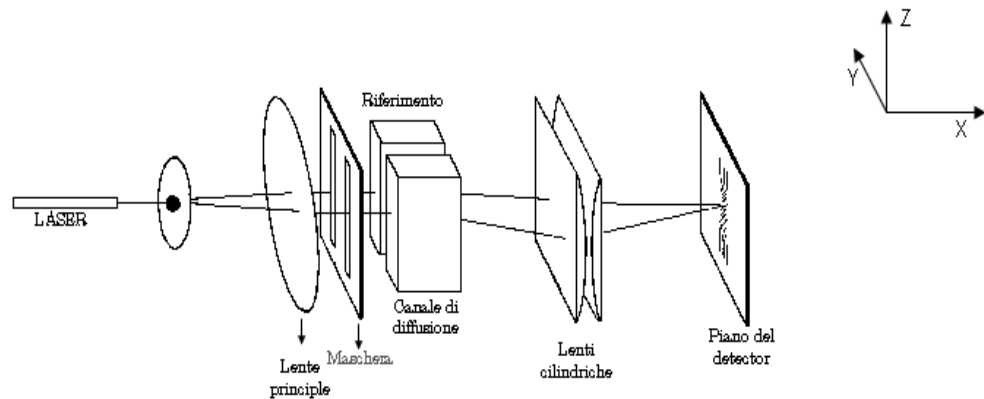
#### **2.1.1 Introduzione**

I metodi più precisi ed accurati per la determinazione dei coefficienti di mutua diffusione sono i metodi interferometrici di Gouy e Rayleigh (è stato valutato che la precisione sia di circa 0.1%). In questa sezione verrà descritto il metodo interferometrico di Rayleigh e verranno riportate le equazioni utilizzate per la determinazione dei coefficienti di mutua diffusione.

Il metodo di Rayleigh permette di determinare un profilo unidimensionale dell'indice di rifrazione di un sistema liquido contenuto in una cella a geometria rettangolare<sup>[23]</sup>. L'analisi di questo profilo in funzione del tempo, sotto certe condizioni iniziali e procedurali, può essere quantitativamente analizzato e restituirci informazioni sul processo diffusivo<sup>[24]</sup>.

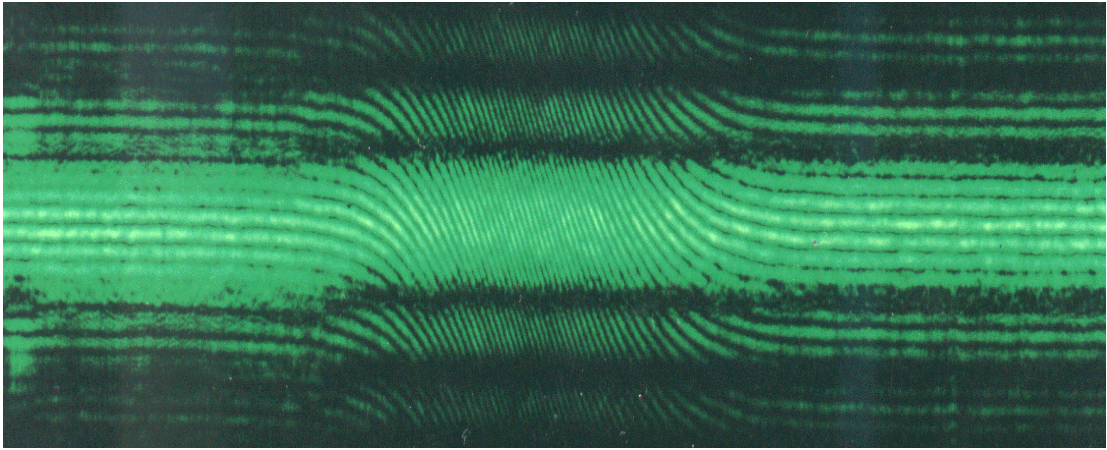
#### **2.1.2 Descrizione del metodo**

Una fascio luminoso divergente, generato da un fascio LASER indirizzato in uno “*spatial filter*”, è reso convergente da una lente sferica con fuoco nel piano del rivelatore. Il fascio così descritto passa attraverso una maschera contenente due fenditure verticali, a monte della cella di misura. Uno dei due raggi prodotti dalle fenditure passa attraverso la cella, l'altro (riferimento), passa attraverso il bagno ad acqua. L'immagine di interferenza è raccolta sul piano del rivelatore.



**Figura 2-1** Schema del sistema ottico utilizzato nell'interferometria di Rayleigh.

La distanza tra le frange d'interferenza è determinata dalla separazione tra le due fenditure sulla maschera mentre lo spostamento assoluto è proporzionale alla differenza di cammino ottico dei due raggi. Se l'indice di rifrazione nel canale di diffusione è uniforme lungo l'asse Z, il valore della posizione Y dei massimi di intensità al piano del detector sarà invariante con Z. In altre parole saranno prodotte, come figura di interferenza, delle linee verticali. Se, invece, l'indice di rifrazione nel canale di diffusione varia lungo Z i raggi saranno deflessi dal gradiente dell'indice di rifrazione e il sistema di lenti cilindriche sarà necessario al fine di portare tali raggi sul piano del detector. Inoltre, poiché il cammino ottico tra i due raggi cambierà lungo l'asse Z, la posizione dei massimi sarà spostata lungo la stessa direzione di una quantità proporzionale alla variazione dell'indice di rifrazione.



**Figura 2-2** Pattern interferometrico ottenuto con l'interferometro di Gosting.

Un esperimento di diffusione consiste nello stabilire un contatto tra due soluzioni aventi differente composizione. Il processo di mescolamento sotto certe condizioni, tra le quali che non ci siano flussi convettivi, è governato dalla diffusione.

In un esperimento di diffusione nel quale siano state messe in contatto due soluzioni A e B, con concentrazione  $c_i^A$  e  $c_i^B$  di uno stesso soluto  $i$ , è possibile dimostrare (nell'ipotesi in cui la dipendenza del coefficiente di diffusione dalla concentrazione sia relativamente piccola) che il coefficiente di diffusione misurato è quello di un sistema avente concentrazione  $\bar{c}_i$ , media tra le due soluzioni, tale che  $\bar{c}_i = (c_i^A + c_i^B) / 2$ . Gosting, Fujita e Creeth<sup>[25]-[29]</sup> hanno dato il più grande contributo nello sviluppo delle equazioni che sono necessarie per ricavare i coefficienti di diffusione dall'analisi in funzione del tempo del profilo dell'indice di rifrazione.

Lo spazio compreso tra i due estremi dell'immagine di interferenza, riportato in termini di multiplo della distanza tra due frange adiacenti, è chiamato il numero totale di frange  $J$ . Questa quantità è collegata alla differenza di indice di rifrazione tra le due soluzioni  $\Delta n$  moltiplicata per un fattore  $a / \lambda$  dove  $a$  è il

cammino ottico della cella di diffusione e  $\lambda$  è la lunghezza d'onda del LASER. In effetti,  $J$ , rappresenta, per un profilo dell'indice di rifrazione monotono, il numero di frange intersecate da una linea parallela all'asse Z.



**Figura 2-3** Riproduzione schematica di un'immagine di interferenza Rayleigh.

La variazione dell'indice di rifrazione lungo la cella è definita attraverso la funzione operativa  $f(j) = \frac{2j-J}{J}$ , dove  $j$  è una variabile continua che va da 0 al numero totale di frange  $J$ . La funzione  $f(j)$  ha la proprietà di essere compresa tra -1 ed 1 e di assumere valore nullo per valori di  $j$  uguali a zero (al centro dell'immagine di interferenza)<sup>[24]</sup>.

### Sistemi binari

L'interpretazione più semplice di un processo diffusivo si ha nel caso di un sistema binario nel quale sia il coefficiente di mutua diffusione  $D$  sia la derivata dell'indice di rifrazione  $R = \frac{\partial n}{\partial c}$  non siano funzione della concentrazione.

Definendo una variabile di comodo,  $x$ , la quale è definita come la distanza lungo l'asse Z dallo strato limite (interfaccia di separazione tra le due soluzioni stratificate) è possibile scrivere la seconda legge di Fick in questo modo:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (2.1.1)$$

$$n = \bar{n} + R(c - \bar{c}) \quad (2.1.2)$$

Se applichiamo le seguenti condizioni iniziali:

$$\begin{aligned} c &= c^{bot} & x < 0, \quad t = 0 \\ c &= c^{top} & x > 0, \quad t = 0 \end{aligned} \quad (2.1.3)$$

e le condizioni di diffusione libera:

$$\begin{aligned} c &= c^{bot} & x \rightarrow -\infty \\ c &= c^{top} & x \rightarrow +\infty \end{aligned} \quad (2.1.4)$$

Integrando la (2.1.1) otteniamo il seguente risultato:

$$g(c) = \frac{2(c - \bar{c})}{\Delta c} = erf(z) = H(z) \quad (2.1.5)$$

dove  $erf(z) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^z e^{-\beta^2} d\beta$  è la funzione gaussiana errore e  $z = \frac{x}{2\sqrt{Dt}}$ .

Per un esperimento di interferometria Rayleigh, a partire dal “*pattern*” d’interferenza di Rayleigh possiamo facilmente ricavare il profilo dell’indice di

rifrazione lungo la celle il quale può essere espresso attraverso la funzione operativa  $f(j)$  in funzione di  $z$  in questo modo:

$$f(j) = \frac{2j-J}{J} = \frac{2(n-\bar{n})}{\Delta n} = \frac{2(c-\bar{c})}{\Delta c} = H(z) \quad (2.1.6)$$

Da ogni funzione  $f(j)$  possiamo quindi calcolare  $D$ , il coefficiente di mutua diffusione del sistema. Per un sistema binario ideale, da differenti funzioni  $f(j)$ , otterremo lo stesso valore di  $D$  [24].

Nel caso più generale di un sistema binario reale, sia  $D$  che  $R$ , dipendono dalla concentrazione. Possiamo assumere una dipendenza polinomiale del coefficiente di diffusione [26].

$$D = D_c \left[ 1 + k_1 (c - \bar{c}) + k_2 (c - \bar{c})^2 + \dots \right] \quad (2.1.7)$$

e possiamo applicare la forma generale dell'equazione di Fick

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (2.1.8)$$

Risulta utile scrivere la soluzione  $g(c)$  nel seguente modo:

$$g(c) = g_0 + \frac{\Delta c}{2} g_1 + \left( \frac{\Delta c}{2} \right)^2 g_2 + \dots \quad (2.1.9)$$

e definendo un set di funzioni  $\phi_i$  tali che:

$$\begin{aligned}
 g_0 &= \varphi_0 \\
 g_1 &= k_1 \varphi_1 \\
 g_2 &= k_1^2 \varphi_2 + k_2 \varphi_3 \\
 &\dots\dots\dots
 \end{aligned}
 \tag{2.1.10}$$

possiamo risolvere l'equazione differenziale (2.1.8) in termini delle funzioni  $\varphi_i$ ,  
ottenendo;

$$\begin{aligned}
 \varphi_0 &= H(z) \\
 \varphi_1 &= -\frac{1}{4} \left[ 2(H(z))^2 + 2z H'(z) H(z) + (H'(z))^2 - 2 \right] \\
 \varphi_3 &= \frac{1}{16} \left[ 8(H(z))^3 + z(18 - 4z^2) H'(z) (H(z))^2 + (12 - 4z^2) (H'(z))^2 H(z) + \right. \\
 &\quad \left. - z(H'(z))^2 - 4z H'(z) - \left( 8 - \frac{12\sqrt{3}}{\pi} \right) H(z) - \frac{12\sqrt{3}}{\pi} H(\sqrt{3}z) \right] \\
 &\dots\dots\dots
 \end{aligned}
 \tag{2.1.11}$$

Inserendo la (2.1.11) nella (2.1.9), l'espressione di  $g(c)$  diventa:

$$g(c) = \varphi_0 + k_1 \frac{\Delta c}{2} \varphi_1 + (k_1^2 \varphi_2 + k_2 \varphi_3) \left( \frac{\Delta c}{2} \right)^2 + \dots
 \tag{2.1.12}$$

Possiamo, inoltre, assumere una dipendenza polinomiale dell'indice di rifrazione:

$$n = n_{\bar{c}} + R_{\bar{c}} (c - \bar{c}) \left[ 1 + a_1 (c - \bar{c}) + a_2 (c - \bar{c})^2 + \dots \right]
 \tag{2.1.13}$$

Inserendo la (2.1.12) nella (2.1.13) otteniamo:



$$f(j) = g(c) + a_1 \frac{\Delta c}{2} \left[ (g(c))^2 - 1 \right] + a_2 \left( \frac{\Delta c}{2} \right)^2 \left[ (g(c))^3 - g(c) \right] + \dots \quad (2.1.14)$$

Definendo  $z^0$  tale che  $f(j) = H(z^0)$  ed espandendo  $z = \frac{x}{2\sqrt{D_c} t}$  attorno al valore

$z^0$  scriviamo:

$$z = z^0 + \left[ k_1 \frac{\partial z}{\partial k_1} + a_1 \frac{\partial z}{\partial a_1} \right]_{z=z^0} + \left[ \frac{k_1^2}{2} \frac{\partial^2 z}{\partial k_1^2} + \frac{a_1^2}{2} \frac{\partial^2 z}{\partial a_1^2} + k_1 a_1 \frac{\partial^2 z}{\partial a_1 \partial k_1} + k_2 \frac{\partial z}{\partial k_2} + a_2 \frac{\partial z}{\partial a_2} \right]_{z=z^0} + \dots \quad (2.1.15)$$

Inserendo la (2.1.14) nella (2.1.15) e usando la catena di relazioni

$$\left( \frac{\partial z}{\partial \xi} \right)_{f(j)} = - \left( \frac{\partial z}{\partial f(j)} \right)_{\xi} \left( \frac{\partial f(j)}{\partial \xi} \right)_z, \text{ otteniamo:}$$

$$z = z^0 + \frac{\Delta c}{2} \left[ a_1 U(z^0) - k_1 R(z^0) \right] + \left( \frac{\Delta c}{2} \right)^2 \left[ a_1^2 W(z^0) - a_1 k_1 V(z^0) + a_2 U(z^0) H(z^0) - \frac{k_1^2}{2} S(z^0) + k_2 T(z^0) \right] + \dots \quad (2.1.16)$$

dove:

$$\begin{aligned}
U(z) &= \frac{1 - (H(z))^2}{H'(z)} \\
R(z) &= \frac{\varphi_1}{H'(z)} \\
S(z) &= 2z(R(z))^2 + \frac{2R(z)}{H'(z)}\varphi_1 - \frac{2\varphi_2}{H'(z)} \\
W(z) &= U(z)[2zU(z) - 4H(z)] \\
T(z) &= \frac{\varphi_3}{H'(z)} \\
V(z) &= \frac{U(z)}{H'(z)}\varphi_1' + 2zR(z)
\end{aligned} \tag{2.1.17}$$

per  $\Delta c$  relativamente piccoli:

$$z \cong z^0 + \frac{\Delta c}{2} [a_1 U(z^0) - k_1 R(z^0)] = z^0 + E(z) \tag{2.1.18}$$

e poiché  $U(z)$  e  $R(z)$  sono funzioni pari rispetto a  $z$ , anche  $E(z)$  è una funzione pari. Noi siamo interessati a calcolare  $z$ , poiché esso darà direttamente il valore di  $D_c^-$ . Se per un dato valore di  $f(j_1)$  otteniamo un valore  $z_1^0$ , per il corrispondente valore di  $f(j_2) = -f(j_1)$ , poiché  $H(z)$  è una funzione dispari rispetto a  $z$ , otteniamo  $z_2^0 = -z_1^0$ .

Allora la differenza:

$$z_1^0 - z_2^0 \cong z_1 - z_2 = \frac{x_1 - x_2}{2\sqrt{D_c^-} t} \tag{2.1.19}$$

può essere usata direttamente nel calcolo di  $D_{\bar{c}}$ . Questa procedura, basata sull'accoppiamento di posizioni simmetriche, fu sviluppata da Creeth<sup>[27]</sup>.

Forti deviazioni dalla linearità per  $D$  e  $R$ , e la presenza di impurità, possono portare ad un'erronea valutazione di  $D_{\bar{c}}$ . In generale la valutazione di  $D$  calcolata da  $z_1^0$  sarà una funzione di valori positivi di  $f(j)$  dopo aver applicato il metodo di Creeth. Quando il valore calcolato di  $D$  dipende da  $f(j)$  comunemente il coefficiente di diffusione del sistema sarà quello relativo al valore al centro del "pattern",  $D_A$ , (coefficiente di diffusione pseudo-binario) ottenuto estrapolando rispetto a  $f(j)$ :

$$D_A = \lim_{f(j) \rightarrow 0} D[f(j)] \quad (2.1.20)$$

Se noi consideriamo  $z_A = \frac{x}{2\sqrt{D_A t}}$ , possiamo definire la deviazione

$$\Omega = H(z_A) - f(j) \quad (2.1.21)$$

Questa quantità è un diagnostico del metodo di Creeth, valori relativamente grandi dell'area  $Q = \int_0^1 \Omega df(j)$  possono segnalare forti dipendenze non lineari dalla concentrazione e/o la presenza di altre specie diffusive nel sistema<sup>[28], [29]</sup>.

### Sistema ternario

Consideriamo adesso un sistema ternario. Assumiamo che sia la matrice dei

coefficienti di diffusione<sup>1</sup> sia  $R_1 = \frac{\partial n}{\partial c_1}$ ,  $R_2 = \frac{\partial n}{\partial c_2}$  siano indipendenti dalla

concentrazione. La seconda legge di Fick questa volta sarà scritta come:

$$\begin{aligned}\frac{\partial c_1}{\partial t} &= D_{11} \frac{\partial^2 c_1}{\partial x^2} + D_{12} \frac{\partial^2 c_2}{\partial x^2} \\ \frac{\partial c_2}{\partial t} &= D_{21} \frac{\partial^2 c_1}{\partial x^2} + D_{22} \frac{\partial^2 c_2}{\partial x^2}\end{aligned}\quad (2.1.22)$$

$$n = \bar{n} + R_1 (c_1 - \bar{c}_1) + R_2 (c_2 - \bar{c}_2) \quad (2.1.23)$$

se consideriamo le seguenti condizioni iniziali

$$\begin{aligned}c_1 &= c_1^B & c_2 &= c_2^B & x < 0, t = 0 \\ c_1 &= c_1^T & c_2 &= c_2^T & x > 0, t = 0\end{aligned}\quad (2.1.24)$$

e le condizioni di diffusione libera:

$$\begin{aligned}c_1 &= c_1^B & c_2 &= c_2^B & x \rightarrow -\infty \\ c_1 &= c_1^T & c_2 &= c_2^T & x \rightarrow +\infty\end{aligned}\quad (2.1.25)$$

otteniamo le seguenti soluzioni integrali<sup>[26]</sup>:

---

<sup>1</sup> La forma generale dell'equazione di Fick è  $\frac{\partial C_i}{\partial t} = - \sum_{j=1}^{n-1} D_{ij} \frac{\partial^2 C_j}{\partial x^2}$ , dove  $i$  rappresenta l'indice del componente  $i$  - esimo ed  $n$  è il numero totale dei soluti. Ne deriva che per un sistema contenente due soluti i coefficienti di diffusione sono quattro.

$$\begin{aligned}
 c_1 &= \bar{c}_1 + K_1^+ H(\sqrt{\sigma_+} y) + K_1^- H(\sqrt{\sigma_-} y) \\
 c_2 &= \bar{c}_2 + K_2^+ H(\sqrt{\sigma_+} y) + K_2^- H(\sqrt{\sigma_-} y)
 \end{aligned}
 \tag{2.1.26}$$

dove

$$y = \frac{x}{2\sqrt{t}} \tag{2.1.27}$$

$$\begin{bmatrix} E & F \\ G & H \end{bmatrix} = \frac{1}{\begin{vmatrix} D_{11} & D_{12} \\ D_{21} & D_{22} \end{vmatrix}} \begin{bmatrix} D_{11} & D_{12} \\ D_{21} & D_{22} \end{bmatrix}
 \tag{2.1.28}$$

$$\begin{aligned}
 \sigma_+ &= \frac{1}{2} \left[ H + E + \sqrt{(H - E)^2 + 4FG} \right] \\
 \sigma_- &= \frac{1}{2} \left[ H + E - \sqrt{(H - E)^2 + 4FG} \right]
 \end{aligned}
 \tag{2.1.29}$$

e

$$\begin{aligned}
 K_1^+ &= \frac{(\sigma_+ - E)\Delta c_1 - F\Delta c_2}{2(\sigma_+ - \sigma_-)} \\
 K_1^- &= \frac{(\sigma_- - E)\Delta c_1 - F\Delta c_2}{2(\sigma_- - \sigma_+)} \\
 K_2^+ &= \frac{(\sigma_+ - H)\Delta c_2 - F\Delta c_1}{2(\sigma_+ - \sigma_-)} \\
 K_2^- &= \frac{(\sigma_- - H)\Delta c_2 - F\Delta c_1}{2(\sigma_- - \sigma_+)}
 \end{aligned}
 \tag{2.1.30}$$

Possiamo scrivere:

$$\begin{aligned}\Gamma_+ &= \frac{2}{\Delta n} (R_1 K_1^+ + R_2 K_2^+) \\ \Gamma_- &= \frac{2}{\Delta n} (R_1 K_1^- + R_2 K_2^-)\end{aligned}\quad (2.1.31)$$

$$\Gamma_+ + \Gamma_- = 1$$

dove  $\Delta n = R_1 \Delta c_1 + R_2 \Delta c_2$  da la variazione totale dell'indice di rifrazione. La variazione di indice di rifrazione può essere espressa attraverso le seguenti equazioni:

$$f(j) = \Gamma_+ H(\sqrt{\sigma_+} y) + \Gamma_- H(\sqrt{\sigma_-} y) \quad (2.1.32)$$

È facile dimostrare che il coefficiente di diffusione pseudobinario  $D_A$  è dato da:

$$\frac{1}{\sqrt{D_A}} = \Gamma_+ \sqrt{\sigma_+} + \Gamma_- \sqrt{\sigma_-} \quad (2.1.33)$$

Se definiamo:

$$\alpha_i = \frac{R_i \Delta c_i}{\Delta n} \quad i = 1, 2, \dots, n \quad \left( \sum_{i=1}^n \alpha_i = 1 \right) \quad (2.1.34)$$

Dalla (2.1.30) e dalla (2.1.31) possiamo ottenere la relazione lineare:

$$\Gamma_+ = a + b\alpha_1 \quad (2.1.35)$$

Dove  $a$  e  $b$  sono due costanti. Inserendo la (2.1.35) nella (2.1.32) otteniamo:

$$f(j) = (a + b\alpha_1) H(\sqrt{\sigma_+} y) + (1 - a - b\alpha_1) H(\sqrt{\sigma_-} y) \quad (2.1.36)$$

I minimi quadrati applicati alla funzione  $f(j)$  rispetto alle variabili  $(y, \alpha_1)$  restituiscono le quantità  $\sigma_+$ ,  $\sigma_-$ ,  $a$ ,  $b$ .

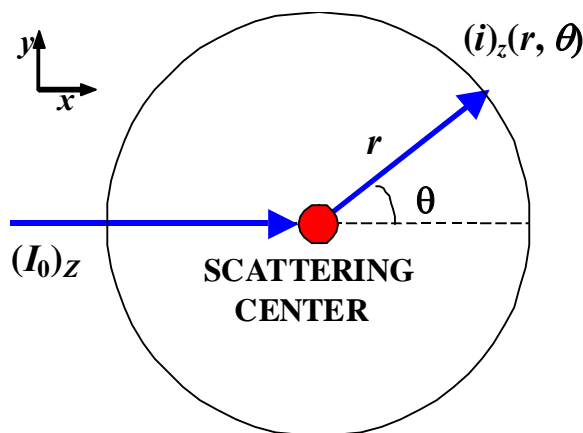
I coefficienti di diffusione ternari possono essere determinati utilizzando il seguente set di equazioni[30]:

$$\begin{aligned} D_{11} &= \frac{(a+b)(1-a)\sigma_- - a(1-a-b)\sigma_+}{b\sigma_+\sigma_-} \\ D_{12} &= -\frac{R_2}{R_1} \frac{(\sigma_+ - \sigma_-)a(1-a)}{b\sigma_+\sigma_-} \\ D_{21} &= -\frac{R_1}{R_2} \frac{(\sigma_+ - \sigma_-)(a+b)(1-a-b)}{b\sigma_+\sigma_-} \\ D_{22} &= \frac{(a+b)(1-a)\sigma_+ - a(1-a-b)\sigma_-}{b\sigma_+\sigma_-} \end{aligned} \quad (2.1.37)$$

## 2.2 Scattering di luce

### 2.2.1 Introduzione

Secondo la teoria microscopica delle fluttuazioni, il moto termico casuale delle molecole di un fluido produce fluttuazioni nell'insieme completo di variabili termodinamiche locali. Quando la luce interagisce con la materia, il campo elettrico della radiazione induce una polarizzazione oscillatoria degli elettroni nelle molecole, le quali, divenendo sorgenti secondarie di radiazione, emettendo luce (luce diffusa)<sup>[31]</sup>. Consideriamo un raggio LASER monocromatico e polarizzato lungo l'asse  $z$  con intensità  $(I_0)_z$  e un rivelatore situato sul piano  $xy$ , piano di "scattering", a distanza  $r$  dal centro dello "scattering" e che forma un angolo  $\theta$  con il raggio incidente



**Figura 2-4** Schema di un esperimento di "Light Scattering".

La relazione tra l'intensità del luce incidente e quella diffusa per unità di volume

$(i)_z(r, \theta)$  è[34]:



$$\frac{(i)_z(r, \theta)}{(I_0)_z} = \frac{\pi^2 (1 + \cos^2 \theta)}{\varepsilon_0^2 \lambda^4 r^2} \frac{\langle (\delta \alpha)^2 \rangle}{V} = \frac{4\pi^2 n^2 V (1 + \cos^2 \theta)}{\lambda^4 r^2} \langle (\delta n)^2 \rangle \quad (2.2.1)$$

dove  $n$  è l'indice di rifrazione della porzione e  $V$  è il suo volume,  $\lambda$  è la lunghezza d'onda dell'onda elettromagnetica  $\varepsilon_0$  è la permittività elettrica nel vuoto,  $\langle (\delta \alpha)^2 \rangle$  e  $\langle (\delta n)^2 \rangle$  medie sui tempi. I risultati degli esperimenti sono normalmente riportati come rapporti di Rayleigh  $R_\theta$ , quantità normalizzata rispetto al fattore geometrico  $r$  ed all'angolo  $\theta$ .

$$R_\theta = \frac{r^2}{1 + \cos^2 \theta} \frac{(i)_z(r, \theta)}{(I_0)_z} \quad (2.2.2)$$

cosicché:

$$R_\theta = \frac{4\pi^2 n^2 V}{\lambda^4} \langle (\delta n)^2 \rangle \quad (2.2.3)$$

### 2.2.2 Light Scattering per soluzioni binarie

Per un sistema binario possiamo esprimere le fluttuazioni di indice di rifrazione come funzione delle fluttuazioni di pressione  $p$ , temperatura  $T$  e concentrazione  $c_1$ . Assumendo che il contributo dovuto alle prime due variabili possa essere

stimato attraverso lo “*scattering*” di luce del solvente e sottratto all'intensità totale della luce diffusa possiamo scrivere:

$$R_{\theta} = \frac{4\pi^2 n^2 V}{\lambda^4} \left( \frac{\partial n}{\partial c_1} \right)_{T,p}^2 \langle (\delta c_1)^2 \rangle \quad (2.2.4)$$

dalla meccanica statistica

$$\left( \frac{\partial^2 G}{\partial c_1^2} \right)_{T,p} = \frac{RT}{\langle (\delta c_1)^2 \rangle} \quad (2.2.5)$$

dove  $G$  è l'energia libera di Gibbs, considerando la definizione di potenziale chimico e applicando le serie di McMillan e Mayer del viriale per il potenziale chimico del solvente otteniamo<sup>[31]</sup>:

$$R_{\theta} = \frac{4\pi^2 n^2}{N_A \lambda^4} \frac{c_1 \left( \frac{\partial n}{\partial c_1} \right)_{T,p}^2}{\left( \frac{1}{M_1} + 2B_1 c_1 + \dots \right)} \quad (2.2.6)$$

L'equazione (2.2.6) è molto usata in studi su macromolecole, essa permette di determinare sia il peso molecolare che il secondo coefficiente del viriale<sup>[32]</sup>. Dalla (2.2.6) possiamo concludere che l'intensità diffusa è proporzionale non solo alla concentrazione delle particelle ma anche al peso molecolare. A causa di ciò, il

contributo allo “*scattering*” di una soluzione, da parte di piccole molecole e ioni è trascurabile rispetto a quello di molecole grandi<sup>[33]</sup>.

### 2.2.3 “*Dynamic Light Scattering*” (DLS)

In linea di principio l'intensità della luce diffusa può essere monitorata sia in un intervallo di tempi dell'ordine dei secondi sia in un intervallo di tempi dell'ordine dei millisecondi. Fluttuazioni di intensità di luce diffusa, da un piccolo volume di soluzione, analizzati in un tempo dell'ordine dei millisecondi è correlato ai moti Browniani dei soluti. D'altra parte valori di intensità mediati su tempi dell'ordine dei secondi non daranno nessuna informazione sulle proprietà dinamiche del sistema. Questa è la differenza principale che esiste tra “*Dynamic light scattering*”<sup>[34]-[37]</sup> (DLS) e “*Static Light Scattering*” (SLS).

Lo “*scattering*” di luce è prodotto dall'interazione degli elettroni con la radiazione incidente, poiché però, gli elettroni sono delle sorgenti mobili (a causa del moto browniano) la frequenza della radiazione di “*scattering*” risultante sarà spostata a valori più alti o più bassi a seconda della direzione del moto e della velocità relativa rispetto al detector (effetto Doppler). Le molecole in soluzione si muovono in tutte le direzioni con ugual probabilità e, poiché esse hanno una distribuzione delle velocità continua, sarà osservato un allargamento dello spettro continuo rispetto alla frequenza della radiazione incidente. L'entità dell'allargamento dello spettro è correlata al moto Browniano delle molecole e, quindi, ai coefficienti di diffusione. Tuttavia il moto delle macromolecole è così lento che l'allargamento dello spettro è così piccolo da non poter essere studiato con tecniche spettroscopiche convenzionali. Quindi allo scopo di ottenere informazioni sulle proprietà dinamiche dei componenti di una soluzione

analizzando la luce diffusa, è conveniente operare nel dominio dei tempi (trasformazione di Fourier dello spettro), invece di lavorare nel dominio delle frequenze. La fluttuazione nel tempo delle intensità della luce diffusa, relativa ad un piccolo elemento di volume, è monitorata in un tempo dell'ordine dei microsecondi. Il moto Browniano delle particelle e la conseguente fluttuazione locale di concentrazione sono responsabili delle fluttuazioni di intensità nel tempo.

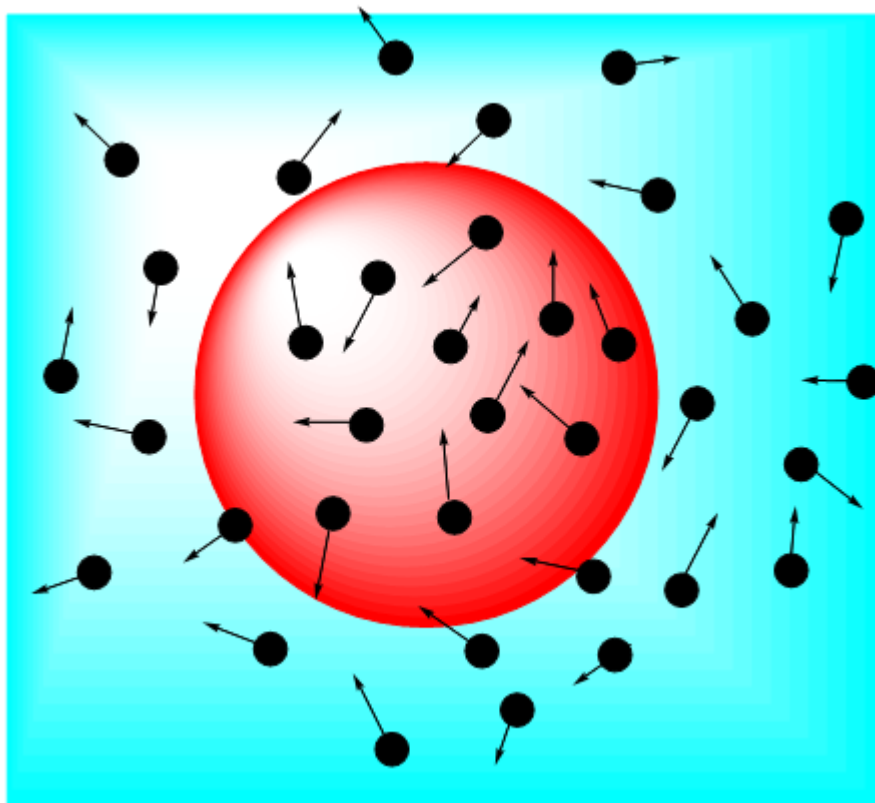


Figura 2-5

Le particelle, che appartengono al volume illuminato, diffonderanno la luce incidente. L'intensità totale di "*scattering*" sarà data dalla somma di entrambi i contributi dovuti sia alla intrinseca capacità di scattering sia ad effetti di interferenza dovuti alla differenza di fase reciproca. Per  $N$  particelle che diffonderanno l'intensità di scattering  $I_{TOT}$  sarà data da:

$$I_{TOT} = N I_1 \left[ 1 + 2 \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \cos(\delta_i - \delta_j) \right] \quad (2.2.7)$$

dove  $I_{TOT}$  ,  $I_1$  sono, rispettivamente, l'intensità totale e individuale di scattering per un determinato angolo e  $\delta_i$  rappresenta la differenza di fase. Se le particelle si muovono la differenza di fase sarà funzione del tempo e l'intensità totale fluttuerà. In un esperimento "Homodyne"<sup>[34]</sup> è possibile misurare la funzione di correlazione associata alle fluttuazioni di intensità:

$$g^{(2)}(\mathbf{q}, \tau) = \frac{\langle I(\mathbf{q}, 0) I(\mathbf{q}, \tau) \rangle}{\langle I \rangle^2} \quad (2.2.8)$$

dove  $\tau$  è il tempo e  $\mathbf{q} = \hat{\mathbf{r}} \frac{4\pi}{\lambda_0} n \sin \frac{\theta}{2}$  è il vettore di "scattering".

Uno dei più semplici approcci all'interpretazione di un esperimento di DLS è basato sulle seguenti assunzioni:

- 1) Il volume di scattering contiene un gran numero di particelle così che l'ampiezza del campo elettrico di scattering è una variabile casuale Gaussiana complessa<sup>[38]</sup>,
- 2) L'intensità della luce di scattering proveniente dal solvente e piccole molecole è trascurabile rispetto allo scattering delle particelle di soluto.
- 3) La luce incidente è polarizzata perpendicolarmente al piano di scattering e la luce diffusa ha la stessa polarizzazione
- 4) La sospensione è sufficientemente trasparente da poter applicare la prima approssimazione di Born e trascurare lo scattering multiplo<sup>[38]</sup>.

- 5) Le particelle sono sufficientemente piccole e/o sferiche cosicché l'intensità di “*scattering*” individuale sia indipendente dal tempo.

Se  $b(\mathbf{q})$  è il campo elettrico prodotto da una particella, il campo elettrico totale  $E(\mathbf{q}, t)$  sarà:

$$\mathbf{E}(\mathbf{q}, t) = b(\mathbf{q}) \sum_{i=1}^N e^{i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}_i(t)} \quad (2.2.9)$$

È possibile fissare:

$$\langle \mathbf{E}(\mathbf{q}, 0) \cdot \mathbf{E}^*(\mathbf{q}, 0) \rangle = |\mathbf{b}(\mathbf{q})|^2 S(\mathbf{q}) \quad (2.2.10)$$

dove il fattore statico di struttura è definito come:

$$S(\mathbf{q}) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left\langle e^{i\mathbf{q} \cdot [\mathbf{r}_i(0) - \mathbf{r}_j(0)]} \right\rangle$$

e

$$\langle \mathbf{E}(\mathbf{q}, 0) \cdot \mathbf{E}^*(\mathbf{q}, \tau) \rangle = |\mathbf{b}(\mathbf{q})|^2 F(\mathbf{q}, \tau) \quad (2.2.11)$$

dove il fattore di struttura dinamico è definito come:

$$F(\mathbf{q}, \tau) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left\langle e^{i\mathbf{q} \cdot [\mathbf{r}_i(0) - \mathbf{r}_j(\tau)]} \right\rangle \quad (2.2.12)$$

La funzione di correlazione associate alle fluttuazioni del campo elettrico è data dal rapporto:

$$g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) = \frac{\langle \mathbf{E}(\mathbf{q}, 0) \cdot \mathbf{E}^*(\mathbf{q}, \tau) \rangle}{\langle \mathbf{E}(\mathbf{q}, 0) \cdot \mathbf{E}^*(\mathbf{q}, 0) \rangle} = \frac{F(\mathbf{q}, \tau)}{S(\mathbf{q})} \quad (2.2.13)$$

La funzione di correlazione delle intensità  $g^{(2)}(\mathbf{q}, \tau)$  (eq. (2.2.16)) è correlata alla funzione di correlazione del campo elettrico  $g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau)$  (eq. (2.2.13)) attraverso la relazione di Siegert<sup>[37]</sup>:

$$g^{(2)}(\mathbf{q}, \tau) = 1 + \left| g^{(1)}(\mathbf{q}, \tau) \right|^2 \quad (2.2.14)$$

Se è quindi possibile derivare un'espressione esplicita per i fattori statici e dinamici per un dato sistema allora un esperimento "homodyne" permette di ottenere informazioni relative alle proprietà di trasporto.

Nel caso semplice di particelle non interagenti abbiamo:

$$S(\mathbf{q}) = 1$$

$$F(\mathbf{q}, \tau) = \left\langle e^{-i\mathbf{q} \cdot \Delta \mathbf{r}(\tau)} \right\rangle = e^{-\frac{q^2}{6} \langle \Delta r^2(\tau) \rangle} = e^{-q^2 D \tau} \quad (2.2.15)$$

Dove  $D$  è il coefficiente di diffusione Browniano della particella. La funzione di correlazione delle intensità è data da:

$$g^{(2)}(\mathbf{q}, \tau) = 1 + e^{-2q^2 D \tau} \quad (2.2.16)$$

## **CAPITOLO 3**



### **3 Idrogeli di PVA e acido poliacrilico**

#### **3.1 Introduzione**

L'idea base dello studio di sistemi ternari PVA-Acido(poliacrilico)(PAA)-Aqua<sup>[40]</sup>,<sup>[43]</sup> è essenzialmente la realizzazione di un idrogelo fisico, costituito da poly(vinyl alcohol) (PVA) e un secondo polimero. Pur interessanti, da un punto di vista chimico e meccanico<sup>[13]</sup>, i gel di solo PVA mostrano scarsa modulabilità in termini di “proprietà di rilascio” in differenti condizioni di pH o forza ionica. In altre parole, se si volesse rilasciare in soluzione un ipotetico principio attivo presente nel gel di PVA, la velocità di rilascio sarebbe scarsamente modificata a seguito di variazioni di pH o forza ionica<sup>[42]</sup> della soluzione. L'aggiunta di un polimero, la cui conformazione in soluzione sia fortemente dipendente dal pH e/o dalla forza ionica e che interagisca con il PVA nella formazione del gel, potrebbe essere un giusto modo per ovviare alla scarsa modulabilità al variare delle condizioni esterne che i gel “puri” mostrano. In tal senso la nostra attenzione si è focalizzata sulla preparazione di idrogeli misti di entrambi polimeri. Qualora fosse stato possibile realizzare una membrana che conservasse gran parte delle ottime proprietà meccaniche degli idrogeli di puro PVA ma fosse, d'altra parte, differente in relazioni alle interazioni con acqua e molecole ospiti, modulate appunto dalla presenza del poliacido, tale risultato sarebbe stato un ottimo punto di arrivo per il nostro lavoro. Purtroppo le interazioni tra i due polimeri in soluzione e degli stessi con il solvente (variando parametri chimico-fisici quali temperatura, pH o forza ionica) si sono mostrate difficilmente controllabili ed utilizzabili allo scopo di realizzare sistemi macroscopici “intelligenti” per il rilascio. Contestualmente,

tuttavia, ci si è imbattuti in interessanti proprietà che soluzioni acquose del polialcol mostrano in presenza di molecole perturbanti. Nel corso di questo capitolo verrà, quindi, mostrato e discusso il lavoro svolto su idrogeli misti e su soluzioni dei due polimeri. Le pagine seguenti risulteranno una introduzione logica e cronologica al lavoro riportato nei capitoli successivi.

## **3.2 Materiali e metodi**

### **3.2.1 Preparazione dei campioni**

#### **Soluzioni stock PVA.**

Un certo quantitativo di PVA (Sigma-Aldrich  $M_w$  85000-124000) è stato pesato in una beuta di vetro pyrex con tappo a vite, successivamente è stato aggiunto un quantitativo di acqua bidistillata in modo da ottenere, di volta in volta, concentrazioni in peso di polimero comprese tra 10-16%. La beuta chiusa è stata posta in un bagno ad acqua a 100°C sotto vigorosa agitazione per circa 2 ore e quindi lasciata raffreddare sotto costante agitazione nel bagno ad acqua fino a raggiungimento della temperatura ambiente.

#### **Soluzioni stock PAA.**

Un certo quantitativo di acido (poliacrilico) PAA (Sigma-Aldrich  $M_w \sim 450000$  (PAA450k), Sigma-Aldrich  $M_v$  100000 (PAA100k)) è stato pesato in una beuta di vetro pyrex con tappo a vite, successivamente è stato aggiunto un quantitativo di acqua bidistillata in modo da ottenere, di volta in volta, concentrazioni in peso di polimero comprese tra 10-13%. La beuta chiusa è stata posta in un bagno ad acqua a 100°C sotto vigorosa agitazione fino a completa dissoluzione delle polveri e

lasciata raffreddare sotto costante agitazione nel bagno ad acqua fino a raggiungimento della temperatura ambiente.

Successivamente le soluzioni stock di PAA sono state titolate potenziometricamente con una soluzione a titolo noto di NaOH.

### **Preparazione soluzioni**

Le soluzioni ternarie A1-A6 e B1-B4 (Tabella 3-1 e Tabella 3-2) sono state preparate per pesata, in fiale in plastica col tappo a vite da circa 25 ml, a partire dalle opportune soluzioni stock (PVA, PAA450k e PAA100k). Le soluzioni A7, A8 e B5-B8 sono state preparate per pesata, a partire dalle polveri degli opportuni polimeri, in fiale di vetro pirex con tappo a vite. Successivamente tali soluzioni sono state riscaldate sotto agitazione in un bagno ad acqua a 100°C fino a completa dissoluzione delle polveri. Le soluzioni così ottenute sono state lasciate raffreddare nel bagno ad acqua sotto agitazione fino a raggiungimento della temperatura di laboratorio.

Le soluzioni A1-A8 e B1-B8 sono state sottoposte a 5 cicli di congelamento/scongelamento. Durante ogni ciclo i campioni sono stati riposti in un refrigeratore a -24°C per 20 ore e successivamente lasciati a temperatura di laboratorio per 6 ore.

Le soluzioni M1-M11 sono state preparate per pesata, in fiale in plastica con tappo a vite, a partire da una soluzione stock al 13.2% in peso di PVA una soluzione stock al 13.9% in peso di PAA450k e da una soluzione di NaOH al 15% in peso. Successivamente sono stati agitati per qualche minuto, riscaldati lievemente ed agitati nuovamente.

Le soluzioni utilizzate per misure di Small Angle Neutron Scattering (SANS) e per misure di NMR protonico sono state preparate utilizzando acqua deuterata e seguendo la stessa procedura descritta precedentemente.

### 3.3 Risultati e discussione

#### 3.3.1 Sistemi ternari PVA-PAA-Acqua

In Tabella 3-1 sono riportate le concentrazioni dei campioni di PVA-PAA450k-Acqua sottoposti ai cicli di congelamento scongelamento.

	<i><b>PVA</b></i>	<i><b>PAA450k</b></i>
	wt	wt
<b>A0</b>	0	0.1
<b>A1</b>	0.1	0.002
<b>A2</b>	0.1	0.005
<b>A3</b>	0.1	0.015
<b>A4</b>	0.1	0.02
<b>A5</b>	0.1	0.03
<b>A6</b>	0.1	0.04
<b>A7</b>	0.1	0.05
<b>A8</b>	0.1	0.1

**Tabella 3-1** Soluzioni ternarie PVA-PAA450k-Acqua (concentrazioni in frazione peso di polimero) utilizzate per ottenere idrogeli con il metodo del congelamento/scongelamento

Contrariamente a quanto ci si aspettava, dopo i cinque cicli di congelamento/scongelo, solamente i campioni da A1-A5 mostravano un aspetto compatto ed uniforme tipico degli idrogeli di puro PVA. Nel caso dei campioni A6-A8 si osservava, invece, la coesistenza di una fase gel, normalmente posizionata nella parte inferiore della fiala, ed una fase liquida sovrastante. Pur essendo partiti da soluzioni omogenee per tre degli otto campioni si assisteva ad un fenomeno di smiscelamento successivo al processo di gelificazione. Supponendo una dipendenza di tale fenomeno dal peso molecolare del PAA sono preparati dei campioni sostituendo al PAA450K del PAA100K. In

Tabella 3-2 sono riportate le concentrazioni dei campioni PVA-PAA100k-Acqua sottoposti ai cicli di congelamento scongelamento.

	<b>PVA</b>	<b>PAA100k</b>
	wt	wt
<b>B1</b>	0.10	0.03
<b>B2</b>	0.10	0.04
<b>B3</b>	0.11	0.05
<b>B4</b>	0.11	0.06
<b>B5</b>	0.11	0.07
<b>B6</b>	0.11	0.09
<b>B7</b>	0.11	0.10
<b>B8</b>	0.11	0.11

**Tabella 3-2** Soluzioni ternarie PVA-PAA100k-Acqua (concentrazioni in frazione peso di polimero) utilizzate per ottenere idrogeli con il metodo del congelamento/scongelo

Ancora una volta, dopo i cinque cicli, solo i campioni B1 e B2 mostravano un aspetto compatto tipico di idrogeli fisici di PVA mentre i campioni B3-B8 erano solo parzialmente gelificati. Esclusa, quindi, la dipendenza dal peso molecolare si

è proceduto a preparare campioni PVA-PAA450k-Acqua a concentrazione costante di poliacido (ad un valore inferiore a quello in cui si era osservava lo mescolamento dopo i cicli di congelamento/scongelo nei campioni A.) ma diverso grado di neutralizzazione. In

Tabella 3-3 sono mostrate le concentrazioni dei campioni di PVA-(NaPAA/PAA)450k-Acqua.

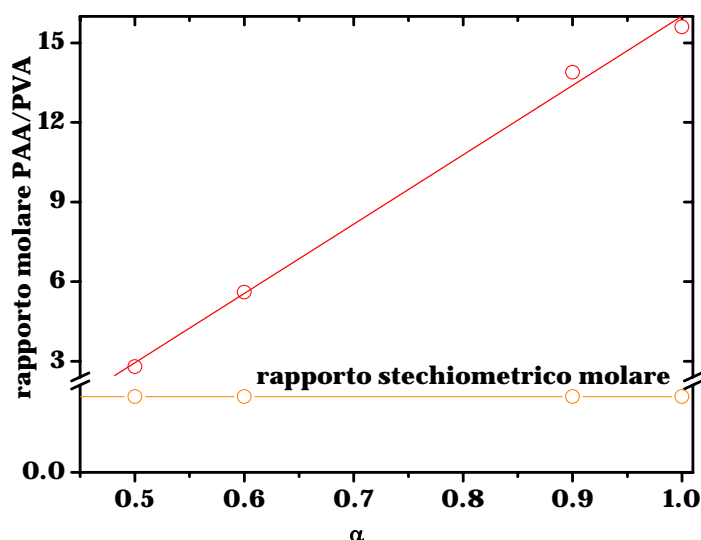
	<i><b>PVA</b></i>	<i><b>PAA450k</b></i>	<i><b><math>\alpha</math></b></i>
	wt	wt	
<b>M1</b>	0.1	0.02	0
<b>M2</b>	0.1	0.02	0.1
<b>M3</b>	0.1	0.02	0.2
<b>M4</b>	0.1	0.02	0.3
<b>M5</b>	0.1	0.02	0.4
<b>M6</b>	0.1	0.02	0.5

<b>M7</b>	0.1	0.02	0.6
<b>M8</b>	0.1	0.02	0.7
<b>M9</b>	0.1	0.02	0.8
<b>M10</b>	0.1	0.02	0.9
<b>M11</b>	0.1	0.02	1

**Tabella 3-3** Soluzioni ternarie PVA-PAA450k-Acqua (concentrazioni in frazione peso di polimero) a diversi gradi di neutralizzazione del poliacido.

Successivamente alla preparazione si è osservato che i campioni M1-M5 apparivano come soluzioni omogenee e trasparenti mentre i campioni M6-M11 risultavano fortemente opachi. Dopo alcune ore dalla preparazione era possibile individuare la presenza di due fasi, la prima, a bassa viscosità e la seconda a viscosità molto elevata.

Si è proceduto a separare le due fasi, in maniera quantitativa mediante centrifugazione, così da poter eseguire indagini indipendenti su ciascuna fase. Sono state eseguite sulle due fasi misure di NMR protonico così da ottenere tramite integrazione dei picchi relativi ai -CH- di entrambi i polimeri (ben distanziati e distinguibili negli spettri NMR) il rapporto relativo in moli nelle due fasi.



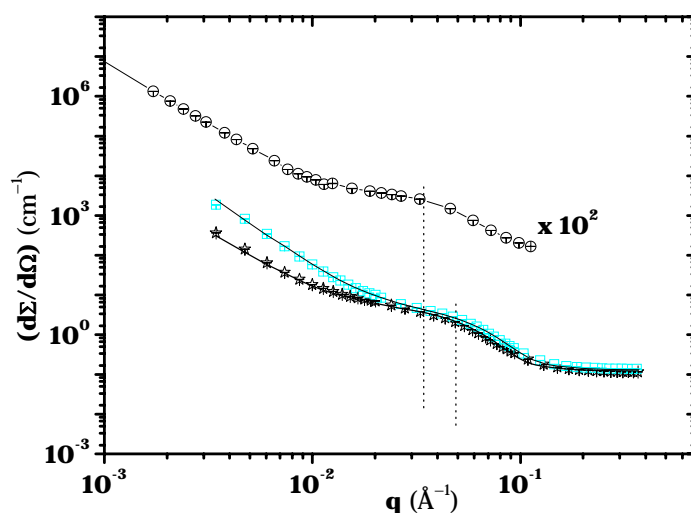
**Figura 3-1** Rapporti tra l'area sottesa dai picchi NMR protonici relativi ai gruppi  $-CH$  di PAA e PVA in funzione del grado di neutralizzazione del PAA.

Questo tipo di indagine ha mostrato (Figura 3-1) che nella fase meno viscosa il rapporto in moli dei due polimeri  $\left(\frac{n_{PAA}}{n_{PVA}}\right)$  varia da 2.8 per il campione M6, grado di neutralizzazione di PAA pari al 50%, a 15.6 per il campione M11, completamente neutralizzato. Tale dato appare particolarmente indicativo se si tiene conto del fatto che il rapporto stechiometrico in moli è 0.13. La soluzione si arricchisce del secondo polimero in maniera quasi proporzionale al grado di neutralizzazione del PAA. Si può concludere quindi che la fase gel, ricca di PVA, tende ad escludere la presenza del PAA che va così ad arricchire la fase sol.

### 3.3.2 Misure di SANS su idrogeli misti PVA-PAA-Acqua

Sono state eseguite sui campioni A0/Gel, M5/Gel e M1/Gel misure di SANS presso il centro Hahn Meitner Institut di Berlino al fine di comprendere la struttura microscopica e mesoscopica di questi sistemi.





**Figura 3-2** (○) campione A0/Gel, (□) campione M5/Gel (☆)campione M1/Gel

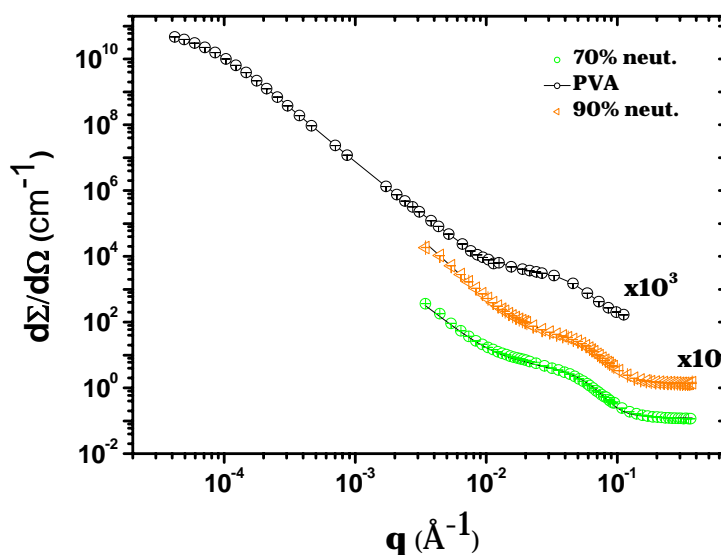
In Tabella 3-4 sono riportati i parametri ottenuti dal fitting di curve di scattering di neutroni utilizzando un modello di sfere rigide e un frattale di massa così come fatto precedentemente per idrogeli di puro PVA<sup>[44]</sup>. Come è possibile osservare, sia qualitativamente in Figura 3-2 che quantitativamente in Tabella 3-4, gli idrogeli misti, sia di PAA che di PAA parzialmente neutralizzato, preparati con il procedimento congelamento/scongelo risultano simili agli idrogeli di puro PVA.

	<b><i>R</i></b>	<b><i>R<sub>HS</sub></i></b>
	Å	Å
<b>A0/Gel</b>	47±1	118±7

<b>M1/Gel</b>	32±1	147±4
<b>M5/Gel</b>	30±1	118±4

**Tabella 3-4** *R*: dimensione dei cristalliti,  $R_{HS}$  distanza tra due cristalliti vicini

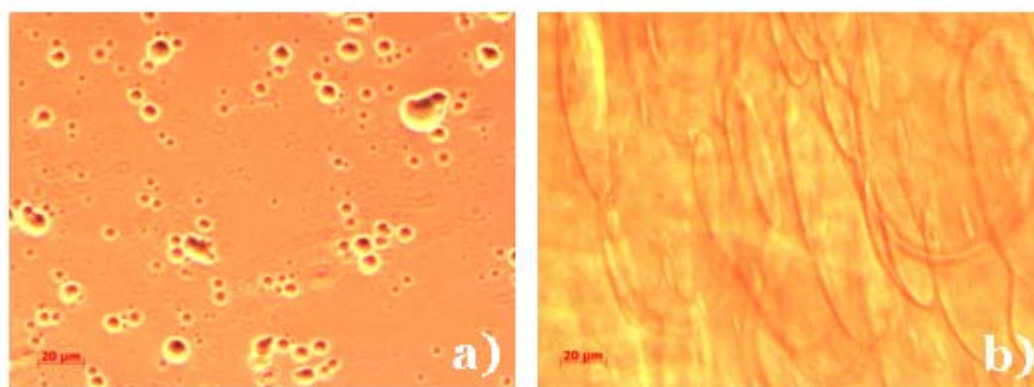
In Figura 3-3 sono riportate due curve di scattering di neutroni relative ad esperimenti sulle fasi ad alta viscosità dei campioni M8 ed M10, confrontate con quella relativa all'idrogelo di puro PVA. In questo caso non è stato possibile analizzare quantitativamente queste curve tuttavia è possibile notare che le curve mantengono sostanzialmente lo stesso aspetto di quelle di gel di PVA puri. ciò nonostante, considerando la posizione del flesso, è possibile dire che in questo caso i cristalliti sono più piccoli suggerendo un processo di formazione del gel meno efficace in accordo d'altra parte con costatazioni visive.



**Figura 3-3** Curve di SANS. (○) campione A0/Gel, (○) fase ad alta viscosità del campione M8, (◁) fase ad alta viscosità del campione M10

### 3.3.3 Microscopia ottica su sistemi ternari PVA-PAA-Acqua

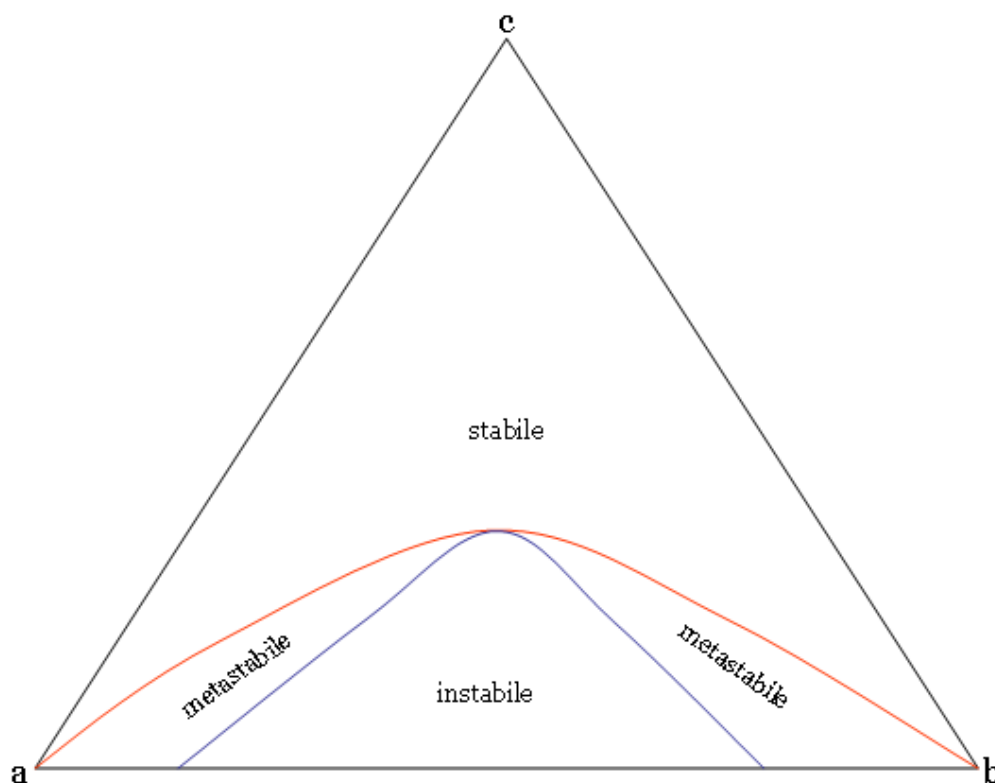
I campioni M sono stati osservati al microscopio ottico a contrasto di fase. Come è possibile osservare in Figura 3-4 i campioni, come del resto da analisi visiva, non appaiono omogenei. Questo tipo di immagini sono tipiche di sistemi in cui sia presente una separazione di fase liquido-liquido, è possibile osservare porzioni di una fase dispersa nell'altra. In particolare in Figura 3-4 -a) si osservano delle piccole gocce sferiche ben distinguibili e definite della fase meno ricca disperse in quella più abbondante d'altra parte, in figura Figura 3-4-b), le gocce hanno perso la forma pseudosferica assumendo un aspetto meno definito.



**Figura 3-4** Immagini di microscopia ottica con contrasto di fase. a) campione M7; b) campione M10.

Per un sistema a tre componenti è possibile rappresentare il diagramma di fase a temperatura costante in un caratteristico diagramma triangolare. Su ognuno dei lati del triangolo equilatero si riportata la frazione molare di un

componente della soluzione.

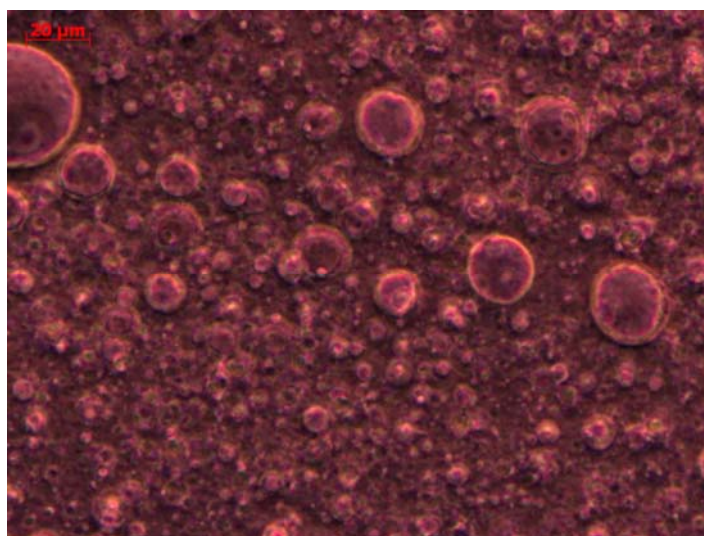


**Figura 3-5** Esempio di un diagramma di fase triangolare a tre componenti a temperatura costante. La curva in rosso rappresenta la “binodale” del sistema. La curva in blu rappresenta la “spinodale”.

In Figura 3-5 è mostrato un esempio di un diagramma di fase per un sistema composto rispettivamente dalle specie *a*, *b* e *c*. La curva in rosso chiamata “binodale” rappresenta il luogo delle composizioni limite dei sistemi termodinamicamente stabili. Al di sotto della curva in rosso è possibile osservare una curva in blu chiamata “spinodale”. Le composizioni comprese tra la curva “binodale” e “spinodale”, pur trovandosi in una zona di instabilità termodinamica, hanno una certa inerzia cinetica alla separazione di fase. Composizioni appartenenti alla zona di metastabilità evolvono verso la separazione di fase

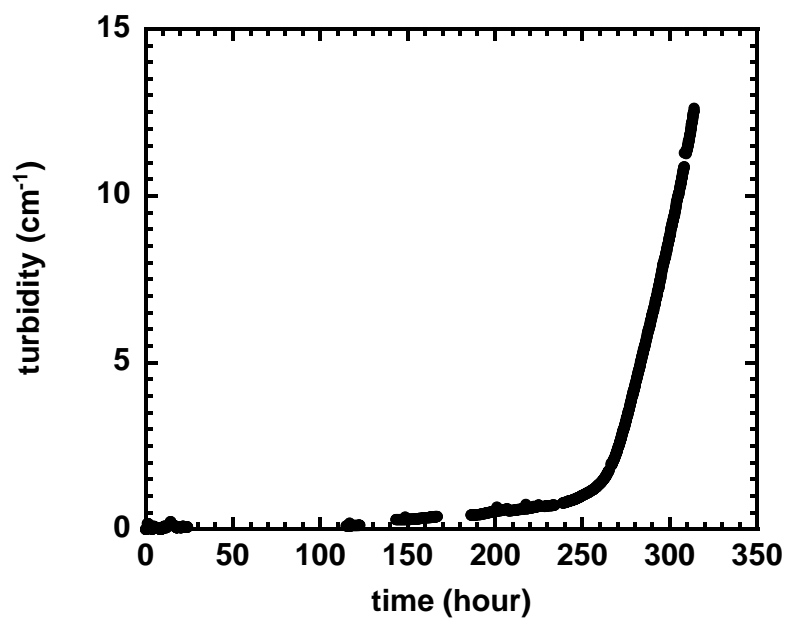
attraverso un meccanismo che può essere paragonato, almeno qualitativamente, alla nucleazione. D'altra parte composizioni al di sotto della curva "spinodale" evolvono verso la separazione di fase in maniera più repentina e massiva.

Le immagini in Figura 3-4 erano state descritte precedentemente come rappresentazioni di sistemi bifasici liquido-liquido. Alla luce di quanto detto nelle precedenti righe è possibile dettagliare ulteriormente l'interpretazione. L'immagine a) in Figura 3-4 è da attribuirsi ad un sistema metastabile, composizione compresa tra la "binodale" e "spinodale" mentre l'immagine b) riguarda un sistema instabile, composizione al di sotto della "spinodale". Ad ulteriore conferma, il campione M5, stabile (monofasico) a 25°C è stato riscaldato a 60-70°C ed osservato al microscopio ottico a contrasto di fase. Come è possibile osservare in Figura 3-6 l'immagine appare molto simile a quella di Figura 3-4-a). Qualitativamente è possibile descrivere il fenomeno immaginando che l'aumento di temperatura abbia traslato le curve "binodale" e "spinodale" verso l'alto nel diagramma triangolare in Figura 3-5 includendo la composizione M5 (nella zona di stabilità a 25°C) nella zona di metastabilità.

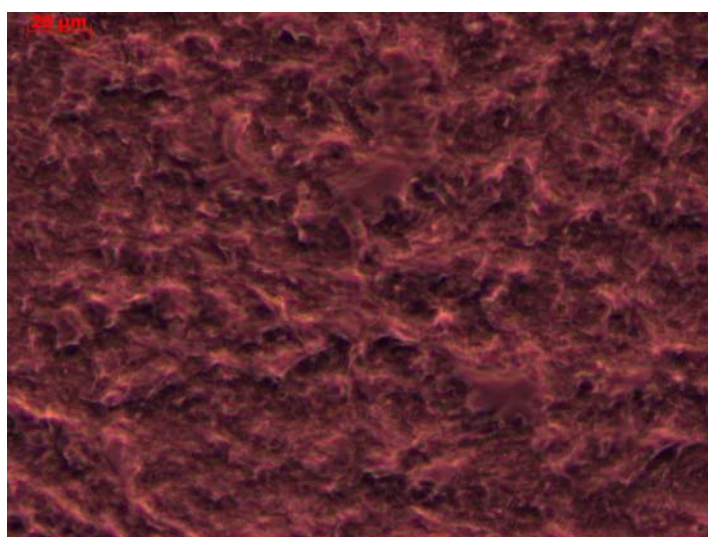


**Figura 3-6** Immagini di microscopia ottica con contrasto di fase. del campione M5 a 60-70°C.

Contestualmente alla separazione di fase liquido-liquido descritta precedentemente è stato osservato un ulteriore fenomeno riguardante tutte le fasi ad alta viscosità dei campioni M6-M11 e la soluzione M5 (monofasica a 25°C). Si è riscontrato, pur mantenendo la temperatura costante, un aumento notevole dell'opacità e della viscosità in funzione del tempo. Dopo circa 10 giorni questi sistemi avevano assunto un aspetto molto simile a quelli di idrogeli di puro PVA. Allo scopo di indagare quantitativamente tale fenomeno, è stata eseguita sul campione M5, appena preparato, una misura di torbidità a temperatura costante in funzione del tempo. L'esperimento consiste nel far attraversare il campione, immerso in un bagno termostatico, da un raggio laser a luce rossa a bassa potenza. L'intensità del raggio uscente dal campione è monitorata e registrata in funzione del tempo. Utilizzando questo strumento è possibile monitorare cinetiche di aggregazione/strutturazione in funzione della temperatura e/o tempo. In Figura 3-7 è riportata la torbidità del campione M5 a 25°C in funzione del tempo. Dopo un tempo di induzione di circa 250 ore la torbidità ha un repentino aumento che visivamente corrisponde ad una forte opacizzazione ed aumento di viscosità.

**Figura 3-7**

In Figura 3-8 è l'immagine di microscopia ottica del campione M5 dopo 300 ore dalla preparazione. Tale immagine evidenzia una strutturazione microscopica e mesoscopica caratteristica di idrogeli polimerici.



**Figura 3-8** Immagini di microscopia ottica con. del campione M5 a 25°C dopo 300 dalla preparazione.

### 3.4 Considerazioni conclusive

Gli idrogeli misti PVA/PAA, preparati a concentrazioni di PAA nell'intervallo di stabilità di sistema (1-4% in peso di PAA), sono risultati strutturalmente simili a quelli di puro PVA. È possibile affermare che il poliacido non partecipi "attivamente" alla formazione della membrana piuttosto sia meccanicamente inglobato nella struttura polimerica del PVA durante la formazione dell'idrogelo. Alla luce di quanto osservato per soluzioni di PVA-NaPA/PAA-Acqua a 25°C è plausibile supporre che il processo di formazione di gel misti utilizzando il processo di congelamento/scongelamento passi attraverso una separazione di fase liquido-liquido non presente invece a 25°C. Questo spiegherebbe la presenza di soluzione in idrogeli di PVA/PAA con concentrazione di PAA maggiore del 4% in peso. D'altra parte è stato inequivocabilmente compreso che la presenza del PAA parzialmente neutralizzato provoca nel sistema una separazione di fase liquido-liquido e contestualmente un aggregazione del PVA. Purtroppo data la complessità del sistema non è stato possibile indagare quantitativamente questi processi. In altre parole non siamo stati in grado di scomporre gli effetti dovuti alla presenza di carica sul PAA e quelli dovuti alla sua concentrazione. Si è scelto quindi di analizzare questi effetti sul polialcol utilizzando, alternativamente, molecole più semplici. Verranno mostrati nei prossimi capitoli gli effetti che una molecola carica semplice e, seguendo lo stesso schema di ragionamento, un polimero non carico hanno sul comportamento di fase del PVA.





## **CAPITOLO 4**

## 4 Il PVA e sali semplici in soluzione

### 4.1 Introduzione

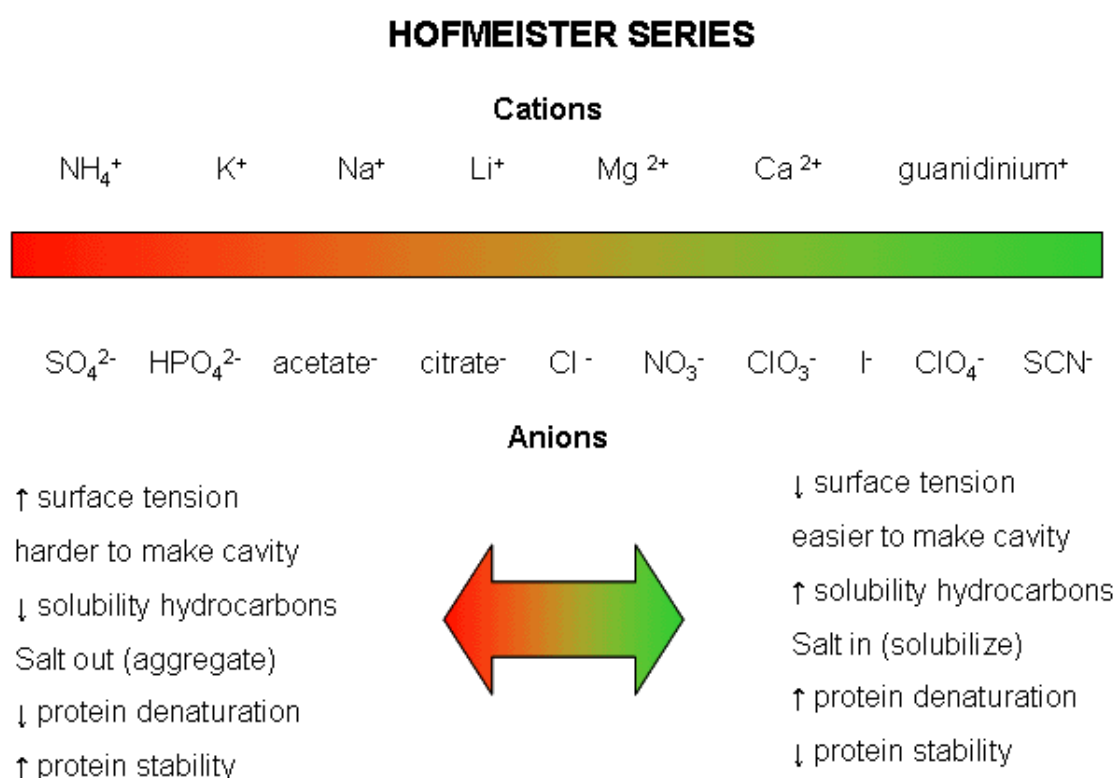
In questo capitolo saranno illustrati gli effetti che sali semplici hanno sul comportamento di fase del PVA in soluzioni. In primo luogo saranno qualitativamente indagati gli effetti che, sali a diverse concentrazioni, hanno sulla stabilità del PVA in soluzioni acquose. Successivamente verrà discusso quantitativamente la cinetica di aggregazione di molecole di PVA in una soluzione di cloruro di sodio. Infine verranno mostrate alcune proprietà degli aggregati così ottenuti.

### 4.2 Serie di Hofmeister

La serie di Hofmeister fu presentata la prima volta in relazione ad un esperimento di precipitazione di una soluzione di proteine estratte da bianco d'uovo. Tale serie mette in scala decrescente anioni e cationi in base alla loro "abilità" a precipitare questa soluzione.

L'effetto di questi ioni e la serie stessa si sono mostrati più generali di quanto ci si immaginasse. L'ordine tipico degli ioni ed alcune delle proprietà correlate alla serie sono mostrate in Figura 4-1. Le specie a sinistra del  $Cl^-$  sono chiamate cosmotropiche ("portatrici di ordine") mentre quelle alla sua destra sono dette caotropiche (portatrici di disordine). Questi termini originariamente si riferivano all'abilità di alterare il network di legami idrogeno dell'acqua. Le specie cosmotropiche sono fortemente idratate ed hanno effetti stabilizzanti e di salting-

out su proteine e macromolecole. D'altro canto le specie caotropiche sono noti denaturanti di proteine e danno luogo a fenomeni di salting-in. Il meccanismo della serie di Hofmeister non è del tutto chiaro, in un primo momento, tale effetto era interpretato esclusivamente in termini di modificazione della struttura dell'acqua tuttavia negli ultimi anni si è compreso che un ruolo importante è giocato dall'interazione diretta degli ioni con le macromolecole.



**Figura 4-1** Rappresentazione schematica della serie di Hofmeister ed alcune proprietà correlate a questa serie.

Nel nostro caso si è voluto indagare in maniera semi-quantitativamente l'effetto di sali sul comportamento di fase del PVA in soluzioni acquose. In particolare si è determinata la concentrazione di sale, per differenti specie di elettroliti, necessaria affinché il polimero precipitasse completamente. Come mostrato in

Tabella 4-1 poche gocce di una soluzione di solfato di sodio procurava una violenta precipitazione del PVA. Il precipitato si mostrava compatto e biancastro molto simile ad un idrogel fisico di puro PVA.

È stato possibile osservare lo stesso effetto utilizzando acetato di sodio e cloruro di sodio, tuttavia, la precipitazione del PVA cominciava a concentrazioni di sale maggiori di 2 mol L<sup>-1</sup>.

	<b>PVA</b>	<b><i>C</i> critica</b>
	wt	mol L <sup>-1</sup>
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	0.005	<0.1
<b>CH<sub>3</sub>COONa</b>	0.04	>>2
<b>NaCl</b>	0.05	>>2
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	0.06	n.o.

**Tabella 4-1** I tabella sono indicate, per ogni tipo da sale, le concentrazioni alle quali si assiste alla completa precipitazione del poliacol.

D'altra parte la presenza di cloruro di calcio in soluzioni di PVA ha un effetto opposto. Non si osserva precipitazione di PVA ad alcuna concentrazione dell'elettrolita.

Come descritto precedentemente sottoponendo soluzioni acquose concentrate di PVA a cicli di congelamento/scongelo è possibile ottenere idrogeli. D'altra parte sottoponendo soluzioni diluite (0.5% in peso) di polimero allo stesso procedimento si osserva, dopo il trattamento, solamente un'opacizzazione della

soluzione. Nel caso dei sistemi PVA-Sale-Acqua il raffreddamento sposta la soglia di precipitazione a valori più bassi di concentrazione. Nel caso esclusivo del sistema PVA-CaCl<sub>2</sub>-Acqua non è stato possibile osservare alcuna precipitazione neanche quando il campione è stato immerso in azoto liquido.

### 4.3 Materiali e metodi

Tutte le soluzioni di misura contenenti poli(vinilalcol) per esperimenti di DLS, sia binarie che ternarie, sono state preparate seguendo il seguente protocollo.

Un certo quantitativo di PVA è stato pesato in una beuta di vetro pyrex con tappo a vite, successivamente è stato aggiunto un quantitativo di acqua (Mill-Q Water Purification System) in modo da ottenere, di volta in volta, concentrazioni in peso di polimero comprese tra 10-12%. La beuta chiusa è stata posta in un bagno ad acqua a 100°C sotto vigorosa agitazione per circa 2 ore. La beuta chiusa è stata lasciata raffreddare sotto costante agitazione nel bagno ad acqua fino a raggiungimento della temperatura di laboratorio. Tale stock, in questo scritto, sarà successivamente chiamato *Stock PVA ~10%*. A partire dallo *Stock PVA ~10%* è stata preparato un'ulteriore soluzione stock con concentrazione di polimero pari al 2%. Tale soluzione è stata preparata pesando un certo quantitativo di *Stock PVA ~10%* ed aggiungendo a questo una esatta quantità di acqua. La soluzione così ottenuta è stata filtrata utilizzando dei filtri da vuoto (Nalgene 500-mL Filter Unit) con pori da 0.45  $\mu\text{m}$  di diametro. Tale stock verrà chiamato di seguito, in questo capitolo, *Stock PVA 2%*. Tutte le soluzioni di misura contenenti PVA sono state ottenute utilizzando stock così preparati.

Tutte le soluzioni prima di essere poste nei “test tube” di misura sono state ulteriormente filtrate con filtri da siringa con pori di 0.22  $\mu\text{m}$  di diametro.

### 4.3.1 Dynamic Light Scattering (DLS)

L'uso della spettroscopia a correlazione di fotoni per la determinazione dei coefficienti di diffusione (anche detta Scattering dinamico di luce) ha il vantaggio rispetto alle tradizionali tecniche (interferometriche per esempio) che le misure sono eseguite su campioni in equilibrio chimico. Inoltre, le informazioni sulla diffusività si ricavano campionando le fluttuazioni termodinamiche microscopiche utilizzando un raggio LASER e quindi non si necessitano grandi quantitativi di sostanza per effettuare tali tipi di esperimenti. Tuttavia con tale tecnica raramente è possibile ottenere stime delle proprietà di trasporto con un'accuratezza dell'ordine dell'1%. Usualmente l'accuratezza è dell'ordine del 10%.

#### **Il sistema ottico**

Un LASER He-Ne (35 mW) con lunghezza d'onda di 632.8 nm (Coherent Radiation) è utilizzato come sorgente luminosa. E' necessario per questo tipo di tecnica l'utilizzo di un LASER polarizzato. La lunghezza d'onda della sorgente deve essere scelta in modo da evitare fenomeni di assorbimento della radiazione da parte dei campioni tenendo presente che al crescere della lunghezza d'onda diminuisce l'intensità di luce dovuta allo scattering (dipendenza da  $\lambda^{-4}$ ) tuttavia il rapporto segnale/rumore non è relazionabile al valore della lunghezza d'onda della sorgente.

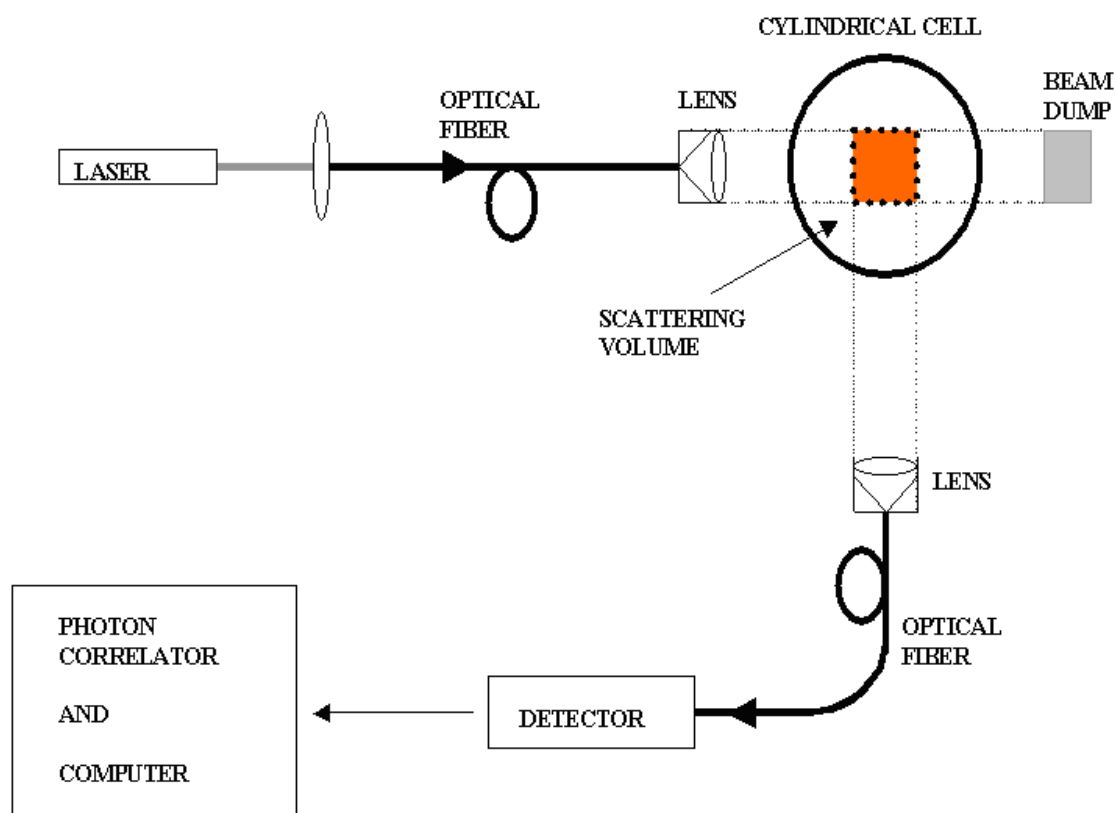
Un fascio così descritto è indirizzato ad una cella di misura (comunemente un test tube, cilindro di vetro con fondo semisferico) che solitamente si trova in un bagno di toluene al fine di minimizzare gli effetti dovuti alle imperfezioni della cella.

Solitamente il diametro del raggio al centro della cella è dell'ordine  $16\mu\text{m}$  (diametro del volume di scattering). I fotoni scatterati ad un determinato angolo rispetto al fascio incidente passano prima attraverso un'iride e successivamente sono indirizzati da una lente e trasmessi al fotodiodo attraverso l'utilizzo di una fibra ottica. Il detector a fotodiodi riceve i fotoni e li converte in impulsi elettrici così che questi possano essere processati ed analizzati dal correlatore (20 canali).

La temperatura della cella è regolata da un modulo Peltier precedentemente calibrato per un intervallo di temperatura da 0 a  $60^{\circ}\text{C}$  garantendo un'accuratezza a metà intervallo di  $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ .

Il Software "Precision Elucidate v 1.0" si occupa dell'acquisizione, in particolare della gestione del detector e del correlatore restituendo un file di output (per ogni accumulazione) contenute la funzione di correlazione mediata nel tempo e il profilo delle intensità al detector durante l'esperimento. E' possibile analizzare successivamente tale file con un secondo software "Precision Deconvolve v 5.5".





**Figura 4-2** Rappresentazione schematica dell'apparato di DLS

### Il Correlatore

La funzione di correlazione dell'intensità  $G^{(2)}(\tau)$  è definita dalla seguente espressione:

$$G^{(2)}(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T I(t) I(t + \tau) dt \quad (4.3.1)$$

In realtà, non è possibile misurare una funzione continua di correlazione delle intensità è tuttavia possibile ottenere una distribuzione discreta accumulando punti per un tempo sufficiente. Il correlatore, appunto, è responsabile di tale operazione. Quest'ultimo, composto da vari chip logici ed amplificatori

operazionali, quasi in continuo processa e aggiunge (alla distribuzione) valori di intensità misurati dal detector. Una caratteristica cruciale per un correlatore è, appunto, la velocità con la quale svolge tale operazione. Tale velocità può essere intesa come l'”abilità” che ha il correlatore nell’aggiungere nel minor tempo possibile un valore alla distribuzione oppure, inversamente espresso, come il tempo minimo  $\alpha$  che può intercorrere tra un campionamento ed un altro. In altre parole usando  $\alpha$  come unità discreta di tempo è possibile ottenere una griglia di valori sperimentali di intensità distanziati nel tempo di un valore  $\alpha$ . All’inizio dell’esperimento  $t_0 = 0$ , il primo campionamento sarà  $t_1 = \alpha$  il secondo  $t_2 = 2\alpha$  e così via. Il flusso numerico sarà espresso in un vettore di  $n$  elementi a cui corrisponderà un tempo pari a  $t_n = n\alpha$ .

Il correlatore valuta quanto queste intensità siano correlate le une alle altre in corrispondenza di un definito intervallo di tempo. Questo processo continua per tutta la durata di un singolo esperimento. La funzione di correlazione può essere espressa, quindi, attraverso la seguente sommatoria  $G_k(\tau_k)$ :

$$G_k(\tau_k) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n I(t_i) I(t_i + \tau_k) \quad (4.3.2)$$

La serie dei valori di  $G_k(\tau_k)$  sono normalizzati rispetto al quadrato della media delle intensità e generano la serie  $g^{(2)}(\tau)$ . Per luci standard e detector che raccolgono una porzione di angolo sufficientemente piccola questa normalizzazione dovrebbe imporre un valore  $g^{(2)}(t_0) = 2$  a  $t = 0$ . Tuttavia anche utilizzando sistemi ottici altamente ottimizzati non si ottiene mai una tale intercetta o intensità.

Misurando la correlazione di un segnale casuale e protraendo l'esperimento per tempi lunghi tutti i valori di  $G$  dovrebbero avere lo stesso valore. Il segnale potrebbe essere descritto come “non correlato” e la risultante curva di correlazione delle intensità apparirebbe come una fluttuazione casuale attorno al valore della linea di base.

Per luce proveniente dallo scattering di molecole che invece diffondono tuttavia la curva delle correlazioni dell'intensità mostra un decadimento esponenziale che indica che il segnale è correlato.

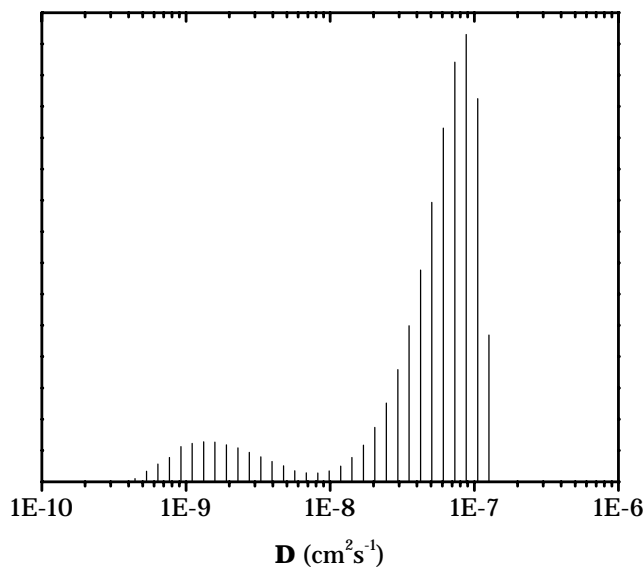
## **4.4 RISULTATI E DISCUSSIONE**

Durante lo studio degli effetti di “salting-out” di sali su soluzioni di PVA ci si è accorti che soluzioni di polimero in presenza di NaCl a concentrazioni minori di 2 mol L<sup>-1</sup> diventavano fortemente opache in funzione del tempo. Non si assisteva tuttavia alla precipitazione del polimero anche dopo molte settimane. È risultato chiaro che era in atto un processo cinetico di aggregazione in cui, però, gli aggregati conservavano dimensioni sufficientemente piccole o strutture particolarmente ricche di acqua tali da permettere loro di rimanere in soluzione. Allo scopo di comprendere e quantificare tale processo sono state eseguite delle misure di DLS su sistemi ternari PVA-NaCl-Acqua in funzione del tempo.

### **4.4.1 Esperimenti DLS: Microsfere di PVA**

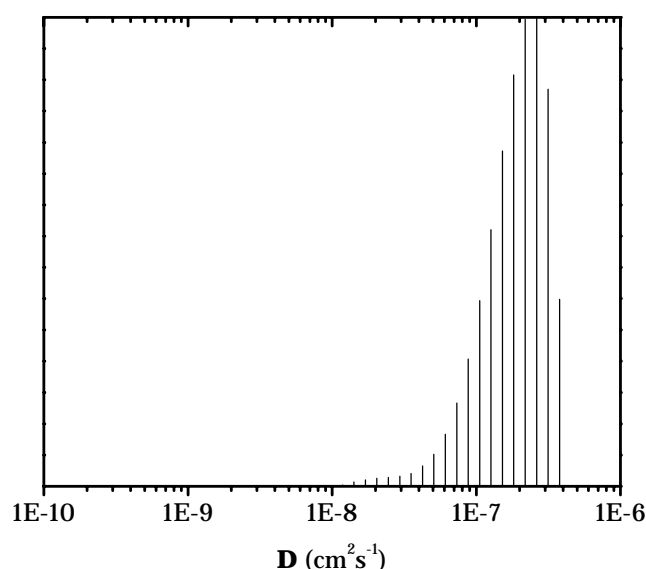
La procedura di preparazione delle soluzioni di PVA descritta nel paragrafo precedente è fondamentale al fine di minimizzare gli effetti, seppur modesti, relativi alla spontanea aggregazione del PVA.

Le soluzioni di PVA preparate per semplice dissoluzione del polimero in acqua subiscono nel tempo delle modificazioni. I fenomeni osservati sono sostanzialmente di due tipi. Il primo, riguardante soluzioni a media-alta concentrazione, consiste nell'opacizzazione e aumento della viscosità tale effetto è ascrivibile a fenomeni intrinseci di aggregazione massiva del polimero. Il secondo è invece collegato all'esistenza di aggregati, "cluster" di polimero in soluzioni di PVA diluite, la dimensione e l'ammontare di questi "cluster" in soluzioni binarie è costante nel tempo ma dipende dalla procedura di preparazione della soluzione. Come è possibile notare Figura 4-3 , dove è riportata la distribuzione normalizzata dei coefficienti di diffusione delle specie presenti in una soluzione acquosa di PVA al 2% in peso, a sinistra del picco più grande è presente un ulteriore picco centrato a valori di circa  $1.5 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  attribuibile, appunto, a "cluster" di PVA.



**Figura 4-3** Distribuzione dei coefficienti di diffusione del PVA, in una soluzione al 2% in peso di polimero non filtrata, ottenuta attraverso esperimenti di DLS a  $90^\circ$ .

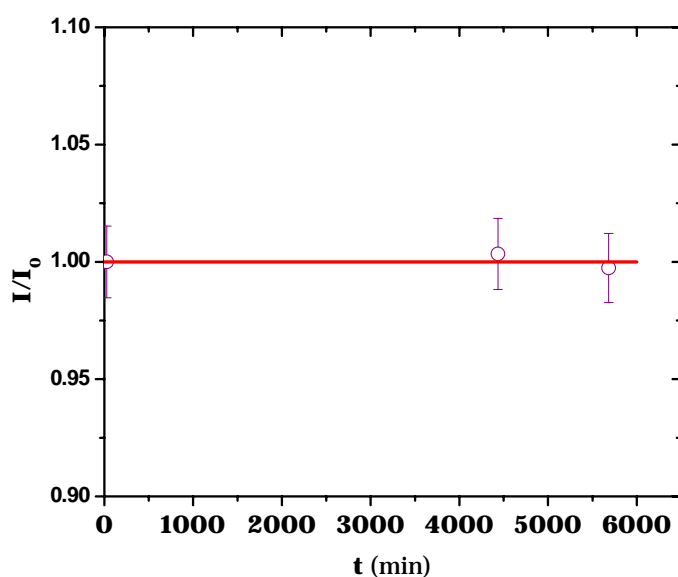
Essendo nostra intenzione valutare l'effetto che “perturbanti”, quali sali o altri polimeri, hanno sull'aggregazione del PVA in soluzione si è reso indispensabile trovare il modo di controllare il più possibile la concentrazione e le dimensioni di questi cluster. Nello specifico si è appunto scelto di utilizzare come soluzione stock, per la preparazione delle soluzioni di misura, una soluzione al 2% in peso di polimero la quale risulta essere stabile per tempi ragionevolmente lunghi. Inoltre si è deciso di filtrare lo *Stock PVA 2%*, come descritto precedentemente, in modo da eliminare gli aggregati di grandi dimensioni. In Figura 4-4 è mostrato una distribuzione normalizzata dei coefficienti di diffusione di una soluzione di PVA al 2 % preparata, secondo il protocollo descritto, nella quale non compare la seconda distribuzione. Come sarà mostrato successivamente in questo capitolo, “cluster” di piccole dimensioni sono ancora presenti tuttavia essi non sono responsabili di una distribuzione separata ma sono identificati dalla spalla della distribuzione principale.



**Figura 4-4** Distribuzione dei coefficienti di diffusione del PVA, in una soluzione al 2% in peso di polimero filtrata, ottenuta attraverso esperimenti di DLS a 90°.

In Figura 4-5 è riportato il valore dell'intensità totale di scattering a 90° normalizzata in funzione del tempo.

Come è possibile notare soluzioni di PVA-Acqua a basse concentrazioni di polimero, preparate secondo il protocollo descritto, sono stabili per tempi lunghi.



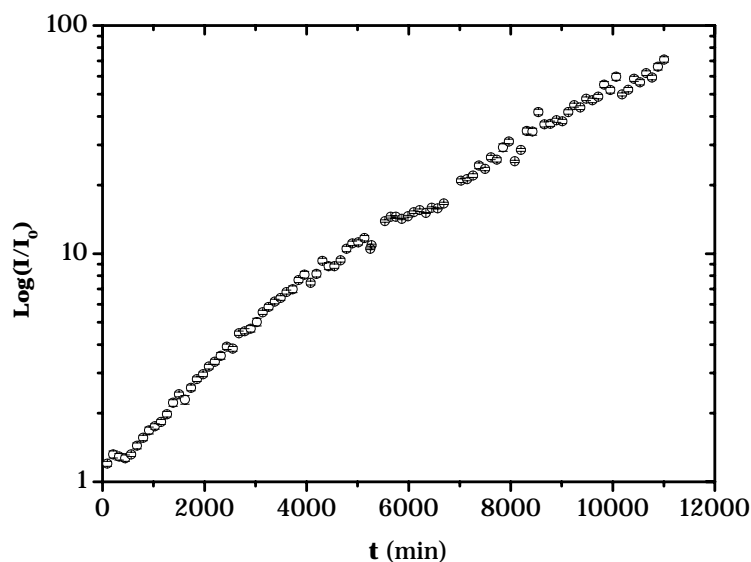
**Figura 4-5** Intensità totale di scattering a 90° normalizzata in funzione del tempo per una soluzione acquosa filtrata di PVA al 2% in peso.

### Esperimenti DLS del sistema PVA-NaCl-Acqua

L'aggregazione di molecole di PVA in soluzione acquose in presenza di NaCl è stata monitorata registrando l'intensità totale di scattering e i valori dei coefficienti di diffusione attraverso esperimenti di Dynamic Light Scattering in funzione del tempo.

Per un tempo complessivo di 11000 min sono state eseguite misure di DLS su un campione con concentrazione di PVA pari allo 0.5% in peso e concentrazione molale di NaCl pari a 2 mol kg<sup>-1</sup>. Sono stati registrati i valori dell'intensità di

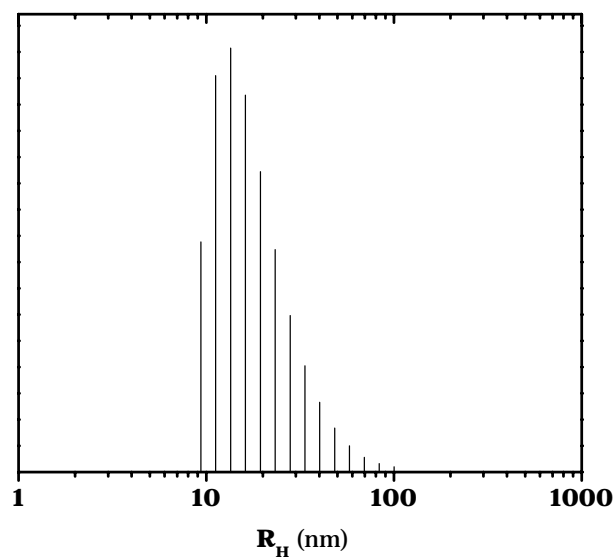
scattering, i coefficienti di diffusione medi (relativi a tutte le specie presenti in soluzione) e i coefficienti di diffusione relativi ad ogni specie o distribuzioni di specie presenti in soluzione.



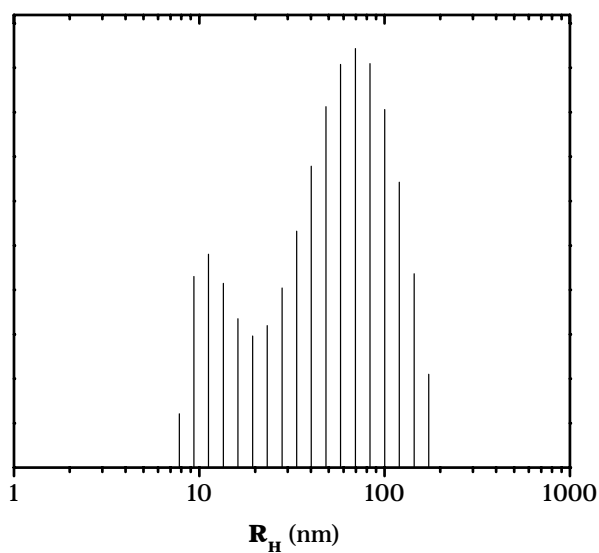
**Figura 4-6** Profilo delle intensità di scattering in funzione del tempo di una soluzione acquosa di PVA 0.5%-NaCl 2 mol kg<sup>-1</sup>

In Figura 4-6 è riportato il profilo delle intensità di scattering totali normalizzate a 90° in funzione del tempo<sup>2</sup>. Il profilo di intensità è monotono, dopo 10000 minuti il valore dell'intensità totale di scattering è circa 50 volte maggiore di quella registrata al tempo zero. In Figura 4-7, Figura 4-8 ed in Figura 4-9 sono riportati le distribuzioni dei raggi idrodinamici delle specie presenti in soluzione rispettivamente a 235, 1993 e 11028 minuti.

<sup>2</sup> Per ogni esperimento è stato preso il valore medio dell'intensità totale di scattering ed è stato diviso per il valore di intensità di scattering, allo stesso angolo ed alle stesse condizioni sperimentali, di uno standard (toluene). Tale procedura si è resa necessaria per rendersi indipendenti dalla configurazione dello strumento durante l'esperimento. Successivamente i valori così ottenuti sono stati divisi per il valore dell'intensità totale di scattering del campione a  $t = 0$

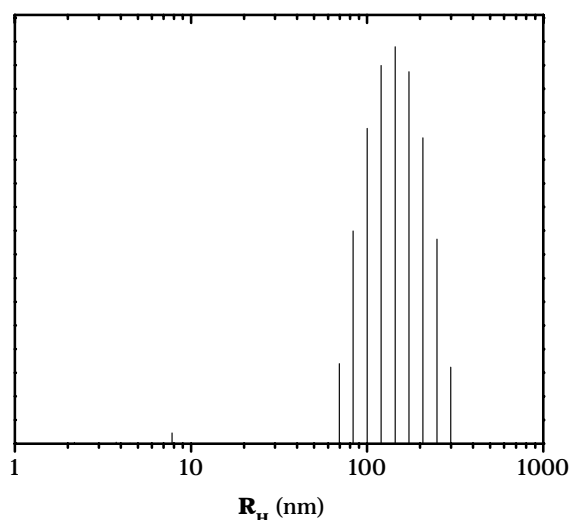


**Figura 4-7** Distribuzione dei raggi idrodinamici delle specie in soluzione, in un campione Pva 0.5% in peso NaCl 2 mol kg<sup>-1</sup>, ottenuta attraverso esperimenti di DLS a 90° dopo 235 minuti dalla preparazione.



**Figura 4-8** Distribuzione dei raggi idrodinamici delle specie in soluzione, in un campione Pva 0.5% in peso NaCl 2 mol kg<sup>-1</sup>, ottenuta attraverso esperimenti di DLS a 90° dopo 1993 minuti dalla preparazione.





**Figura 4-9** Distribuzione dei raggi idrodinamici delle specie in soluzione, in un campione Pva 0.5% in peso NaCl 2 mol kg<sup>-1</sup>, ottenuta attraverso esperimenti di DLS a 90° dopo 11028 minuti dalla preparazione.

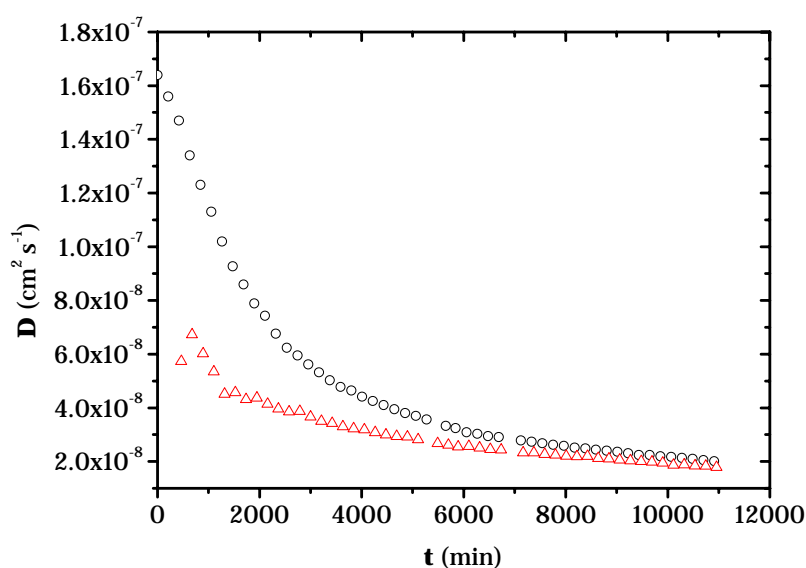
A  $t = 235$  è presente un'unica distribuzione centrata a 10 nm con una spalla verso valori di raggio idrodinamico più alti. Tale distribuzione è da attribuirsi alle catene singole di polimero. A  $t = 1993$ , invece, si distinguono due distribuzioni centrate rispettivamente a 10 e 70 nm. Nell'ultimo esperimento è presente nuovamente un'unica distribuzione centrata a 100-200 nm.

Per ogni esperimento sono stati registrati i coefficienti di diffusione della distribuzione a bassi ed alti valori di raggio idrodinamico e i coefficienti di diffusione totali di entrambe le distribuzioni.

Tuttavia, a tempi bassi la distribuzione caratteristica degli aggregati compare ancora come una spalla della distribuzione delle catene singole, per questa ragione sono stati utilizzati, per scopi quantitativi, solamente gli esperimenti a tempi maggiori di 469 minuti. Per quanto riguarda invece il coefficiente di diffusione

delle catene singole di PVA si è scelto di utilizzare quello ottenuto da esperimenti su soluzioni binarie alla stessa concentrazione.

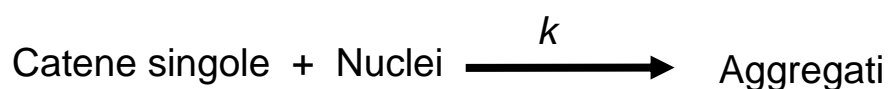
In Figura 4-10 è mostrato il valore dei coefficienti di diffusione totali ed il valore dei coefficienti di diffusione della distribuzione ad alti valori di raggio idrodinamico in funzione del tempo.



**Figura 4-10**(△) Coefficienti di diffusione medi della distribuzione degli aggregati; (○)  
Coefficienti di diffusione medi totali

### Microsfere di PVA: Il modello utilizzato

Il processo di aggregazione di catene di PVA, in soluzione acquosa di cloruro di sodio, osservato quantitativamente al DLS è stato interpretato secondo lo schema seguente:



Alla base del processo di aggregazione c'è l'accrescimento esclusivo di nuclei presenti in soluzione.

Definendo  $C$  la concentrazione totale di polimero in soluzione,  $C_I$  la concentrazione di catene singole e  $C_A$  la concentrazione di catene singole presenti sottoforma di aggregati, per la conservazione della massa, possiamo scrivere:

$$C = C_I(t) + C_A(t) \quad (4.3.3)$$

Definendo  $N_m(t)$  come la concentrazione degli aggregati composti da  $m$  catene polimeriche possiamo scrivere:

$$C_A(t) = \sum_m m N_m(t) \quad (4.3.4)$$

$$C = C_I(t) + \sum_m m N_m(t) \quad (4.3.5)$$

A  $t = 0$  la (4.3.3) sarà:

$$C = C_I(0) + N_A m^* \quad (4.3.6)$$

Dove  $N_A$  è la concentrazione di nuclei in soluzione ed  $m^*$  è il numero di catene per ogni nucleo.  $N_A$  è costante nel tempo ed è sarà da intendersi come la concentrazione di aggregati in soluzione. Si impone altresì, che a  $t = 0$  i nuclei

siano monodispersi. Supponendo che il processo di aggregazione segua una cinetica del secondo ordine possiamo scrivere:

$$\frac{dN_m}{dt} = C_I k N_{m-1} - C_I k N_m \quad (4.3.7)$$

dove  $k$  è la costante cinetica del processo di aggregazione, e il primo termine a destra dell'uguaglianza descrive la trasformazione della specie  $m-1$  nella specie  $m$  per aggiunta di un monomero ed il secondo termine descrive la trasformazione della specie  $m$  nella specie  $m+1$ .

Il processo di aggregazione è considerato irreversibile e le costanti cinetiche sono uguali:

$$N_{m^*} + \text{Catena singola} \xrightarrow{k_{m^*}} N_{m^*+1} + \text{Catena singola} \xrightarrow{k_{m^*+1}} N_{m^*+2} \quad (4.3.8)$$

$$k_{m^*} = k_{m^*+1} = \dots = k_{m^*+n} = k \quad (4.3.9)$$

Come suggerito da Lomakin e altri in sistemi del genere risulta comodo valutare anziché l'evoluzione temporale della concentrazione della specie  $m$ ,  $N_m$ , l'evoluzione temporale dei momenti della distribuzione degli aggregati.

Definiamo:

$$N^{(k)} = \sum_{m=m^*}^{\infty} m^k N_m \quad (4.3.10)$$

il momento  $k$ -esimo della distribuzione di  $N_m$ .

Da un punto di vista fisico i momenti  $N^{(0)}$ ,  $N^{(1)}$ ,  $N^{(2)}$  hanno particolare importanza, ricavando dalla relazione (4.3.10) l'espressione per il momento zero otteniamo:

$$N^{(0)} = \sum_{m=m^*}^{\infty} N_m = N_A \quad (4.3.11)$$

$N^{(0)}$  rappresenta la concentrazione totale di aggregati in soluzione.

Analogamente possiamo ricavare l'espressione del momento primo:

$$N^{(1)} = \sum_{m=m^*}^{\infty} m N_m = C_A \quad (4.3.12)$$

$N^{(1)}$  rappresenta la concentrazione totale di monomero presente negli aggregati.

Per comodità è possibile riscrivere le equazioni del bilancio di massa a  $t=0$  e a  $t$  in termini di momenti delle distribuzioni di  $N_m$ :

$$C = C_I + N^{(1)} \quad (4.3.13)$$

$$C(0) = C_I + m^* N^{(0)} \quad (4.3.14)$$

A questo punto possiamo riscrivere l'equazione cinetica in termini  $N^{(1)}$ , momento primo della distribuzione degli  $N_m$ . Moltiplicando la (4.3.7) e sommando su tutti gli  $m$  otteniamo:

$$\frac{d \sum_{m=m^*}^{\infty} mN_m}{dt} = C_I k \left( \sum_{m=m^*}^{\infty} mN_{m-1} - \sum_{m=m^*}^{\infty} mN_m \right) \quad (4.3.15)$$

Sostituendo la (4.3.12) nella (4.3.15) otteniamo:

$$\frac{dN^{(1)}}{dt} = C_I k \left( \sum_{m=m^*}^{\infty} mN_{m-1} - N^{(1)} \right) \quad (4.3.16)$$

La sommatoria ancora presente nella (4.3.16) può essere riscritta nel modo seguente:

$$\sum_{m=m^*}^{\infty} mN_{m-1} = \sum_{m=m^*}^{\infty} (m-1)N_{m-1} + \sum_{m=m^*}^{\infty} N_{m-1} \quad (4.3.17)$$

La prima sommatoria a destra dell'uguaglianza nella (4.3.17) differisce dalla (4.3.12) soltanto per il termine  $(m^*-1)N_{m^*-1}$  tuttavia  $N_{m^*-1}$  è uguale a zero in quanto rappresenta la concentrazione di una specie non presente in soluzione, quindi:

$$\sum_{m=m^*}^{\infty} (m-1)N_{m-1} = \sum_{m=m^*}^{\infty} mN_m = N^{(1)} \quad (4.3.18)$$

Analogamente la seconda sommatoria a destra dell'uguaglianza differisce dalla (4.3.11) solamente per il termine  $N_{m^*-1}$ , quindi

$$\sum_{m=m^*}^{\infty} N_{m-1} = \sum_{m=m^*}^{\infty} N_m = N^{(0)} \quad (4.3.19)$$

Sostituendo la (4.3.18) e la (4.3.19) nella (4.3.16) otteniamo:

$$\frac{dN^{(1)}}{dt} = C_I k N^{(0)} \quad (4.3.20)$$

Ricavando dalla (4.3.13) la dipendenza di  $C_I$  da  $N^{(1)}$  e sostituendo nella (4.3.20) otteniamo:

$$\frac{dN^{(1)}}{dt} = (C - N^{(1)}) k N^{(0)} \quad (4.3.21)$$

risolvendo l'equazione (4.3.21) , otteniamo:

$$N^{(1)} = C + A e^{-kN^{(0)}t} \quad (4.3.22)$$

dove  $A = C - m^* N_A$  è facilmente ottenuta tenendo conto della condizione iniziale

$N^{(1)}(t=0) = m^* N_A$ . Sostituendo nella (4.3.22) e tenendo presente l'uguaglianza

della (4.3.11) possiamo scrivere:

$$N^{(1)} = C + (m^* N_A - C) e^{-kN_A t} \quad (4.3.23)$$

Analogamente a quanto fatto per il momento primo è possibile scrivere la derivata rispetto al tempo del momento secondo:

$$\frac{dN^{(2)}}{dt} = kC_I \left( \sum_{m=m_*}^{\infty} m^2 N_{m-1} - \sum_{m=m_*}^{\infty} m^2 N_m \right) \quad (4.3.24)$$

La prima sommatoria a destra nell'uguaglianza può essere riscritta tenendo presente che  $(m-1)^2 = m^2 - 2m + 1$ :

$$\sum_{m=m_*}^{\infty} m^2 N_{m-1} = \sum_{m=m_*}^{\infty} (m-1) N_{m-1} + 2 \left( \sum_{m=m_*}^{\infty} (m-1) N_{m-1} + \sum_{m=m_*}^{\infty} N_{m-1} \right) - \sum_{m=m_*}^{\infty} N_{m-1} \quad (4.3.25)$$

Utilizzando le stesse proprietà dei momenti utilizzate per ricavare le (4.3.18) e la (4.3.19) possiamo scrivere:

$$\sum_{m=m_*}^{\infty} m^2 N_{m-1} = N^{(2)} + 2N^{(1)} + N^{(0)} \quad (4.3.26)$$

Sostituendo la (4.3.26) nella (4.3.24) otteniamo:

$$\frac{dN^{(2)}}{dt} = kC_I (2N^{(1)} + N^{(0)}) \quad (4.3.27)$$

Sostituendo la (4.3.20) nella (4.3.27) ed utilizzando la (4.3.13) per esplicitare la relazione tra  $C_I$  ed  $N^{(1)}$  otteniamo:



$$\frac{dN^{(2)}}{dt} = -2k(m^* N_A - C)^2 e^{-2kN_A t} + k(2C + N_A)(C - m^* N_A) e^{-kN_A t} \quad (4.3.28)$$

Integrando e ricordando che a  $t = 0$   $N^{(2)} = m^{*2} N_A$  otteniamo:

$$N^{(2)} = \frac{1}{N_A} \left[ (m^* N_A - C)^2 e^{-2kN_A t} + (N_A + 2C)(m^* N_A - C) e^{-kN_A t} + C^2 + CN_A - m^* N_A^2 \right] \quad (4.3.29)$$

$$N^{(2)} = \frac{1}{N_A} \left( (m^* N_A - C) e^{-kN_A t} + C \right)^2 + (m^* N_A - C)(e^{-kN_A t} - 1)$$

Sul significato fisico del momento secondo si tornerà in seguito.

Nel capitolo 2 è stato illustrato in che modo l'intensità di “*scattering*” sia collegata alle proprietà di trasporto di una specie in soluzione. Tuttavia è interessante comprendere in che modo è possibile interpretare un esperimento di DLS quando in soluzione siano presenti più specie con concentrazioni e dimensioni differenti ed in che modo una proprietà di trasporto media del sistema possa essere collegata, avendo a disposizione informazioni sul sistema, alle proprietà di trasporto delle singole specie in soluzione. In particolare, il coefficiente di diffusione medio ottenuto da un esperimento di DLS è ovviamente collegato alle dimensioni e alla concentrazione delle specie in soluzione. Più precisamente il campo elettrico prodotto dallo “*scattering*” di una singola particella è proporzionale al numero di elettroni di questa particella e quindi conseguentemente al peso molecolare di questa:

$$E_s \sim M \quad (4.3.30)$$

Tuttavia molto più spesso si è interessati all'intensità di “*scattering*” piuttosto che al campo elettrico ricordando quindi che  $I_s = |E_s|^2$  ne consegue che:

$$I_s \sim M^2 \quad (4.3.31)$$

È facile comprendere intuitivamente, a questo punto, che un coefficiente di diffusione medio ottenuto da un esperimento di DLS sarà:

$$\langle D \rangle = \frac{\sum_{k=1}^N P_k(q) N_k M_k^2 D_k}{\sum_{k=1}^N P_k(q) N_k M_k^2} \quad (4.3.32)$$

dove  $P_k(q) \leq 1$  è il fattore di forma  $N_k$ ,  $M_k$  e  $D_k$  sono rispettivamente il numero di particelle la massa ed il coefficiente di diffusione della specie  $k$ -esima. Nell'ipotesi che  $P_k(q)$  sia un numero molto vicino ad uno e sostituendo il numero di particelle con la concentrazione in massa  $c_k = N_k M_k / V$  otteniamo:

$$\langle D \rangle = \frac{\sum_{k=1}^N N_k M_k^2 D_k}{\sum_{k=1}^N N_k M_k^2} = \frac{\sum_{k=1}^N c_k M_k D_k}{\sum_{k=1}^N c_k M_k} \quad (4.3.33)$$

Precedentemente in questo paragrafo è stato descritto un modello per l'interpretazione del processo di aggregazione nel tempo che coinvolge “cluster” di PVA in soluzioni contenenti NaCl. In soluzione, ad ogni istante  $t$  sono presenti molecole di polimero ed aggregati le cui concentrazioni sono funzione della

concentrazione iniziale di polimero  $C$  della concentrazione iniziale di “cluster”  $N_{m^*}$  del numero di molecole per aggregato  $m^*$  e della costante cinetica del processo  $k$ . Sostituendo nell’equazione (4.3.33) tali parametri è tenendo presente il bilancio di massa per il sistema descritto (equazione (4.3.5)) otteniamo:

$$\langle D \rangle = \frac{C_I M_{PVA}^2 D_I + \sum_{m=m^*}^N M_m^2 N_m D_m}{C_I M_{PVA}^2 + \sum_{m=m^*}^N M_m^2 N_m} \quad (4.3.34)$$

dove  $M$  ed  $M_m$  sono rispettivamente la massa molare del PVA e degli aggregati contenenti  $m$  molecole di PVA. Le sommatorie a destra dell’uguaglianza tengono conto del fatto che in soluzione sono presenti aggregati con numero di aggregazione che varia potenzialmente da  $m^*$  ad  $N$ . Moltiplicando numeratore e denominatore a destra dell’uguaglianza per  $1 / M_{PVA}^2$  otteniamo:

$$\langle D \rangle = \frac{C_I D_I + \sum_{m=m^*}^N m^2 N_m D_m}{C_I + \sum_{m=m^*}^N m^2 N_m} \quad (4.3.35)$$

Definendo

$$\langle D_A \rangle = \frac{\sum_{m=m^*}^N m^2 N_m D_m}{\sum_{m=m^*}^N m^2 N_m} = \frac{\sum_{m=m^*}^N m^2 N_m D_m}{N^{(2)}} \quad (4.3.36)$$

e sostituendo l'equazione (4.3.36) nella (4.3.35) e ricordando le definizioni dei momenti della distribuzione di  $N_m$  otteniamo:

$$\langle D \rangle = \frac{C_I D_I + N^{(2)} \langle D_A \rangle}{C_I + N^{(2)}} \quad (4.3.37)$$

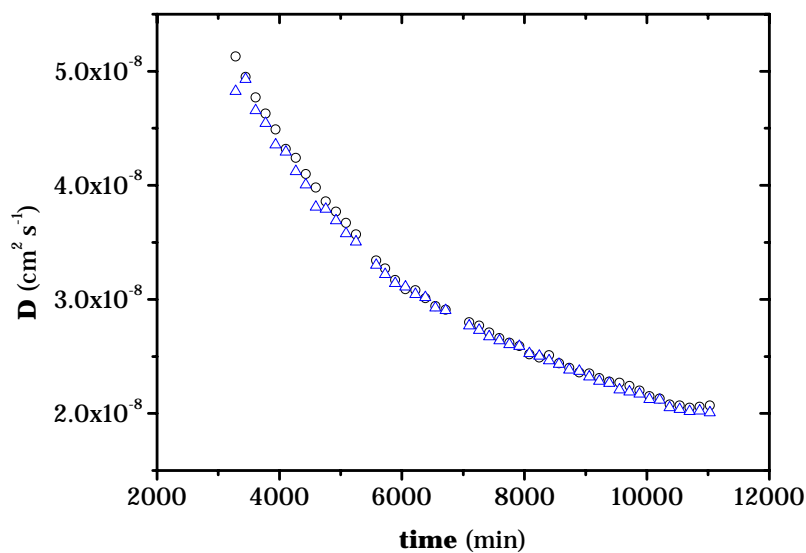
Precedentemente era stato descritto il significato fisico dei momenti zero ed uno della distribuzione di  $N_m$  tralasciando quello del momento secondo. Come appare chiaramente nell'equazione (4.3.37) il momento secondo rappresenta il peso del coefficiente di diffusione di un aggregato avente come coefficiente di diffusione il coefficiente di diffusione medio, così come descritto dall'equazione (4.3.36), nella media dei coefficienti di diffusione delle specie in soluzione. Sostituendo nella (4.3.37) le equazioni (4.3.29), (4.3.22) e (4.3.11) otteniamo:

$$\langle D \rangle = \frac{(m^* N_A - C) e^{-k N_A t} D_I + \left( \frac{1}{N_A} \left( (m^* N_A - C) e^{-k N_A t} + C \right)^2 + (m^* N_A - C) (e^{-k N_A t} - 1) \right) \langle D_A \rangle}{(m^* N_A - C) e^{-k N_A t} + \left( \frac{1}{N_A} \left( (m^* N_A - C) e^{-k N_A t} + C \right)^2 + (m^* N_A - C) (e^{-k N_A t} - 1) \right)} \quad (4.3.38)$$

L'equazione (4.3.38) è stata utilizzata nella procedura di interpolazione dei coefficienti di diffusione totali mostrati in Figura 4-10 allo scopo di ottenere i parametri caratteristici del processo cinetico. La concentrazione totale di polimero,  $C$ , utilizzata nel fit è  $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  il valore di  $D_I$ , coefficiente di

diffusione delle catene singole, è costante nel tempo è  $2.26 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ . In Tabella 4-2 sono riportati i valori  $k$ ,  $m^*$  ed  $N_A$  ottenuti.

Tabella 3-1



**Figura 4-11** (○) coefficiente di diffusione totale sperimentale; (△) coefficiente di diffusione ottenuto dall'interpolazione

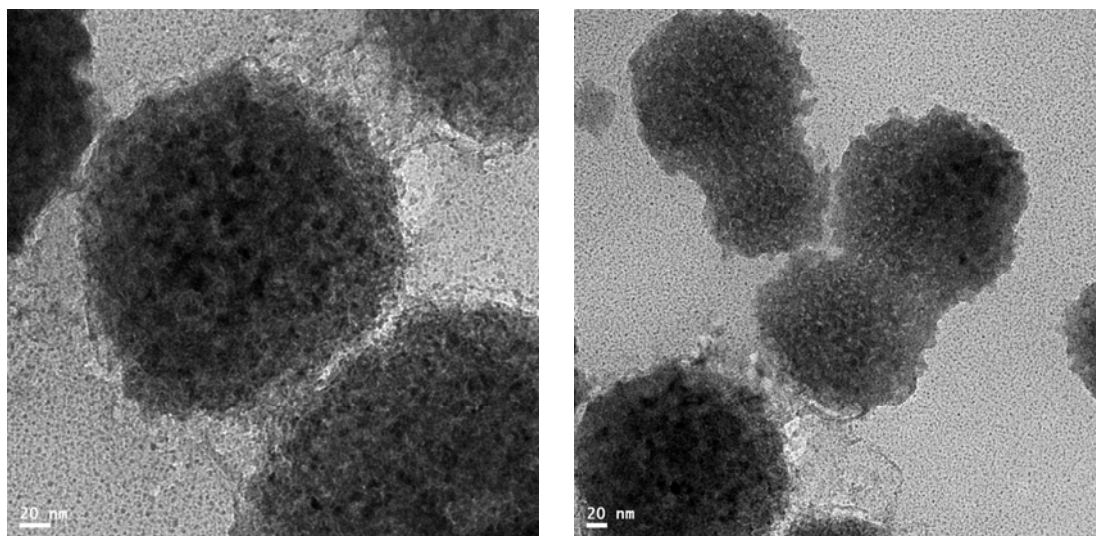
$N_A$	$K$	$m^*$
mol L <sup>-1</sup>	L mol <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	
$3 \pm 2 \times 10^{-7}$	$226 \pm 93$	$4.0 \pm 1.2$

**Tabella 4-2** Parametri cinetici ottenuti dall'intrepolazione.

Il valore di  $m^*$  ottenuto è in accordo con la procedura utilizzata per la preparazione dei campioni. Le soluzioni sono state filtrate con filtri da  $0.22 \mu\text{m}$  è

chiaro quindi che i “cluster” più grandi siano stati allontanati dalla soluzione iniziale. Il valore  $N_A$ , concentrazione totale di aggregati in soluzione, impone che al tempo zero la concentrazione totale di polimero sotto forma di aggregato sia  $1.2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  circa quindi 40 volte inferiore alla concentrazione totale di polimero.

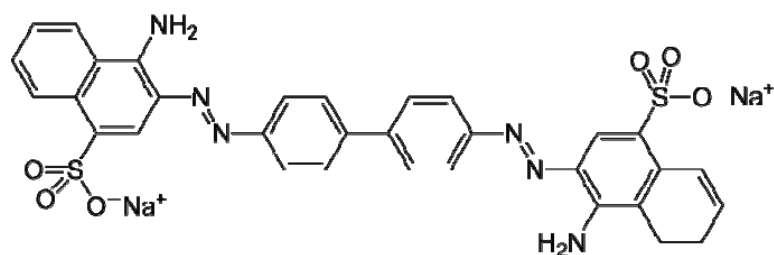
Al fine di ottenere buone immagini di nano particelle di PVA, dai campioni è stato allontanato il sale sottoponendolo a diversi cicli di lavaggio: il campione è stato precipitato in centrifuga e successivamente è stato allontanato il surnatante, in fine, è stata aggiunta acqua ed agitato nuovamente. Tale procedimento è stato ripetuto per almeno 10 volte. I microdomini di PVA privati del sale sono stati osservati al microscopio a trasmissione elettronica.



**Figura 4-12** Immagini di microscopia a trasmissione elettronica di nanoparticelle di PVA

Come è possibile osservare in Figura 4-12 gli aggregati di PVA appaiono di forma quasi sferica e le dimensioni sono in accordo con quelle osservate al DLS.

Successivamente si è testata la possibilità di utilizzare tali microdomini di PVA quali “carrier” di molecole di interesse per il fenomeno del rilascio. È stato eseguito un esperimento qualitativo utilizzando un colorante. Si è scelto di utilizzare il Congo Red, la cui struttura è mostrata in Figura 4-13, in quanto parzialmente idrofobico e capace di donare una forte colorazione a soluzioni acquose di polimero.



**Figura 4-13** Congo Red

Nello specifico è stata aggiunta ad una soluzione acquosa contenente microdomini di PVA poche gocce di una soluzione acquosa del colorante. Il campione è stato agitato per qualche minuto e successivamente è stato centrifugato. Come è possibile osservare in Figura 4-14 successivamente alla centrifugazione la colorazione nella parte acquosa è completamente sparita. Tale colorante interagisce così fortemente con gli aggregati di PVA al punto che l'assorbanza, alla lunghezza d'onda caratteristica del congo red, risulta pressoché nulla nel surnatante.



**Figura 4-14** A sinistra una sospensione di nanoparticelle e congo red in acqua. A destra lo stesso campione dopo centrifugazione.

#### 4.5 Considerazioni conclusive

La serie di Hofmeister rappresenta in questo caso un modello affidabile per la descrizione di fenomeni stabilizzazione-destabilizzazione dei sistemi PVA-Sale-Acqua. Si è effettivamente compreso che molecole cariche inducono le catene polimeriche ad aggregare. La concentrazione e la natura del sale modulano la cinetica e la natura del processo di aggregazione.

Come abbondantemente discusso in letteratura, il PVA ha una forte tendenza alla formazione di strutture microscopiche e mesoscopiche i cui punti di “ancoraggio” sono costituiti da parti cristalline di polimero. In questo lavoro si è studiata la formazione di microdomini di PVA ottenuti in soluzioni di NaCl. Come sottolineato precedentemente la formazione di tali strutture è strettamente dipendente dalla presenza in soluzione di piccoli aggregati che, nel nostro caso, sono costituiti mediamente da quattro molecole di PVA. È da notare che l'evoluzione delle distribuzioni di raggi idrodinamici in funzione del tempo è in accordo con tale modello. Qualora così non fosse, supponendo cioè che l'aggregazione del PVA potesse partire dall'interazione di una singola catena con



un'altra, avremmo osservato l'allargamento di una singola distribuzione e non invece la scomparsa di quella delle catene singole e la comparsa di quella degli aggregati. Quest'osservazione ci permette di supporre che, anche nel caso delle microsfele, il processo aggregazione, la cui forza-motrice è (come nel caso di idrogeli ottenuti per congelamento/scongelo) la tendenza delle molecole del PVA a formare legami idrogeno tra di loro, si sviluppi "attorno" a parti cristalline probabilmente residuo della dissoluzione delle catene.

In fine, la natura molto semplice del sistema e l'alta biocompatibilità del polimero, rendono promettente il possibile utilizzo tecnologico di queste nano-strutture come carrier di molecole d'interesse biologico.

## **CAPITOLO 5**

## **5 Comportamento del PVA in soluzione in presenza di un polimero non carico**

### **5.1 Introduzione**

Come descritto nei capitoli precedenti, in soluzioni acquose ternarie di PVA ed PAA parzialmente neutralizzato, si osservano contemporaneamente fenomeni di aggregazione e separazione di fase liquido-liquido. Nel capitolo 4 è stato mostrato che sali semplici inducono una sostanziale modificazione delle interazioni PVA/solvente tali da modificare drasticamente il comportamento di fase del polimero. In questo capitolo verrà invece mostrato l'effetto che un polimero non carico ha sul comportamento di fase di soluzioni acquose di PVA. Si è scelto di utilizzare il polietilenglicole con peso molecolare medio di 8000 u.m.a.

In primo luogo è stato ottenuto il diagramma di fase a 25°C del sistema PEG8000-PVA, successivamente sono state calcolate tre "tie line" relative al digramma di fase utilizzando un metodo innovativo basato sull'interferometria Rayleigh ed infine sono state valutati i parametri di Flory-Huggins relativi al sistema ternario, a 25°C , PEG8000-PVA-Acqua.

### **5.2 Materiali e metodi**

In questa sezione verranno descritte le procedure e le tecniche sperimentali utilizzate, laddove sarà necessario un approfondimento, omesso per ragioni di scorrevolezza, il lettore sarà rimandato all'opportuna sezione di questo scritto.

Per la preparazione di tutte le soluzioni utilizzate per gli esperimenti descritti in questo capitolo è stata usata acqua ottenuta da Mill-Q Water Purification System, sono stati utilizzati senza ulteriore purificazione: Poli(vinilalcol) (Sigma-Aldrich  $M_w$  85000-124000); Polietilenglicole (Carbowax PEG8000, Fischer Scientific).

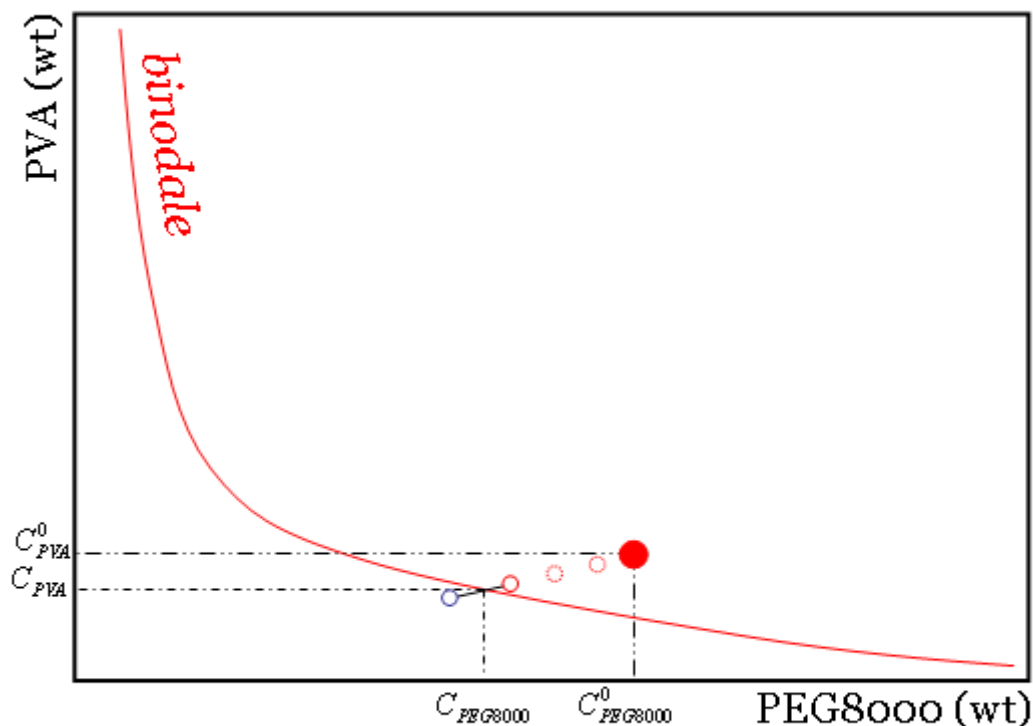
### 5.2.1 Diagramma di fase PEG8000-PVA a 25°C

Un certo ammontare di PVA polvere è stato pesato all'interno di una beuta pirex con tappo a vite ed è stato successivamente aggiunto un ammontare esatto di acqua così da ottenere una soluzione al 12% in peso di polimero. Tale beuta, chiusa, è stata posta in un bagno ad acqua a 100°C sotto vigorosa agitazione per 2 ore. In fine la soluzione stock è stata fatta raffreddare sotto agitazione per almeno 6 ore. Contestualmente un certo ammontare di PEG8000 polvere è stato pesato all'interno di una beuta pirex con tappo a vite, è stata aggiunta una quantità d'acqua così da ottenere una soluzione al 30% in peso di polimero. Tale soluzione è stata posta in un bagno ad acqua a 100°C fino a completa dissoluzione della polvere. Lo stock ottenuto è stato fatto raffreddare e riposto a temperatura di laboratorio.

Per ogni rapporto in peso  $C_{PEG8000}^0 / C_{PVA}^0$  preso in considerazione è stata utilizzata la seguente procedura per la determinazione delle concentrazioni dei due polimeri,  $C_{PEG8000}$  e  $C_{PVA}$ , sulla binodale.

E' stata pesata all'interno di una fiala da circa 15 ml con tappo a vite una certa quantità di stock di PEG8000, quindi è stata aggiunta una quantità nota di stock di PVA sufficiente ad ottenere una miscela bifasica. La separazione di fase liquido-liquido dona al campione una caratteristica opalescenza, osservato con una buona lente d'ingrandimento, questo appare formato da gocce di una fase (la meno abbondante) disperse in un'altra. Allo scopo di favorire il mescolamento delle due

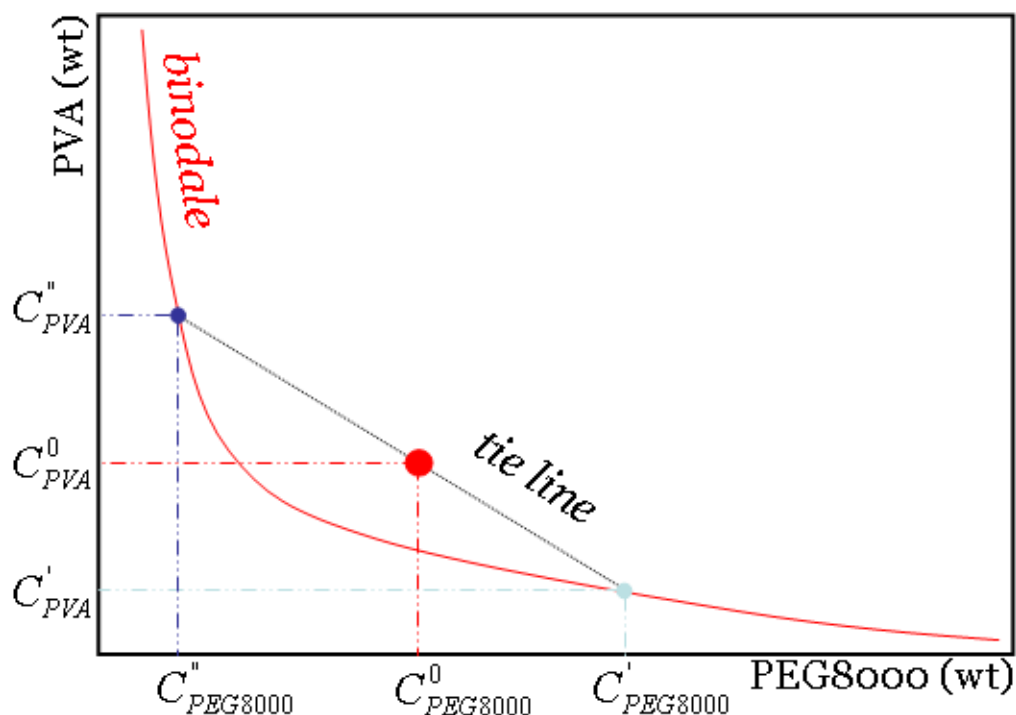
fasi, la fiala è stata riscaldata per qualche minuto in un bagno ad acqua a 100°C ed agitata utilizzando un “vortex”. Essendo, tuttavia, interessati al diagramma di fase a 25°C, la soluzione precedentemente ottenuta è stata riposta in un bagno ad acqua a 25.00°C per un’ora. Al campione opalescente è stata aggiunta una quantità nota d’acqua, è stato, quindi, nuovamente riscaldato ed agitato e riposto nel bagno ad acqua a 25°C. L’operazione descritta è stata ripetuta fino a scomparsa (dopo termostatazione a 25°C) dell’opalescenza. Le concentrazioni  $C_{PEG8000}$  e  $C_{PVA}$ , relative alla transizione tra sistema bifasico e monofasico per il rapporto in peso  $C_{PEG8000}^0 / C_{PVA}^0$ , sono state ottenute mediando le concentrazioni del campione che non mostrava più opalescenza con quelle dell’ultimo campione bifasico. In Figura 5-1 è mostrato schematicamente il procedimento descritto.



**Figura 5-1** Descrizione del metodo utilizzato per costruire la curva binodale del sistema ternario PEG8000-PVA-Acqua a 25°C

### 5.2.2 Determinazione delle “tie line”

Supponendo di preparare una soluzione ternaria di PEG8000 e PVA le cui concentrazioni siano rispettivamente  $C_{PEG8000}^0$  e  $C_{PVA}^0$  (cerchio rosso in Figura 5-2), qualora tale punto si trovi a destra della curva binodale si otterrà un sistema che all'equilibrio sarà formato da due soluzioni immiscibili (da ora in poi denominate “fase I” e “fase II”) stratificate l'una sull'altra. In Figura 5-2 le due soluzioni sono rappresentate da due punti, azzurro e blu e le composizioni dei due punti sono rispettivamente  $C'_{PEG8000}$ ,  $C'_{PVA}$  e  $C''_{PEG8000}$ ,  $C''_{PVA}$ . La linea immaginaria che congiunge i due punti sulla binodale passando per la composizione stechiometrica iniziale è chiamata “tie line”.



**Figura 5-2** “Tie line” del sistema ternario PEG8000-PVA-Acqua a 25°C

Avendo precedentemente ottenuto il diagramma di fase a 25°C è stato possibile preparare una soluzione ad un rapporto in peso noto dei due polimeri, nella zona di instabilità. Tali soluzione, preparata seguendo il protocollo descritto nel paragrafo precedente, è stata successivamente posta in un bagno ad acqua a 25.00°C per 24 ore al fine di assicurare una completa ed efficace stratificazione delle due fasi.

Trascorse 24 ore sono state prelevate quantitativamente la “fase I” e la “fase II” e riposte in due fiale con tappo a vite. Tali soluzioni sono state sottoposte a vari cicli di centrifugazione (10 minuti 3000 rpm) allo scopo di allontanare residui delle rispettive fasi complementari. Una volta purificati, i campioni così ottenuti, sono stati riposti in un bagno ad acqua a 25.00°C.

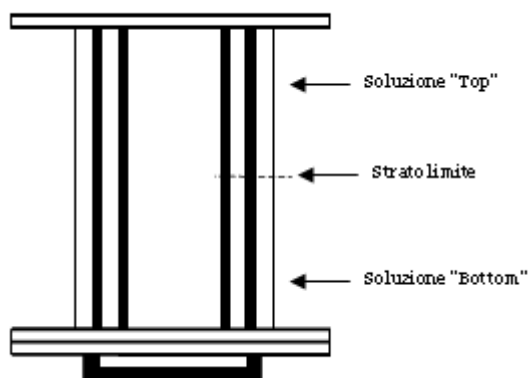
Pur conoscendo la composizione dei due polimeri  $C_{PEG8000}^0$  e  $C_{PVA}^0$  nella soluzione iniziale non sono tuttavia note le composizioni  $C_{PEG8000}'$ ,  $C_{PVA}'$  e  $C_{PEG8000}''$ ,  $C_{PVA}''$  delle due fasi ottenute successivamente allo smescolamento. Sono molteplici i metodi attraverso i quali è possibile determinare concentrazioni incognite in soluzione tuttavia, in presenza di soluti polimerici e polidispersi, tali procedure si dimostrano spesso inaffidabili. Si è scelto nel nostro caso, avendo a disposizione il miglior diffusiometro al mondo, di sviluppare un metodo alternativo utilizzando, appunto, l'interferometria Rayleigh.

Per semplicità e scorrevolezza verrà di seguito solo brevemente descritta la teoria e la procedura strumentale utilizzata, si rimanda il lettore al capitolo 2 ed all'Appendice A per un'approfondita descrizione dello strumento e dell'esperimento.

### **5.2.3 Determinazione di concentrazioni incognite utilizzando l'interferometro di Rayleigh**

Un comune esperimento all'interferometro Rayleigh consiste nello stratificare due soluzioni in modo che la soluzione più densa sia posizionata in basso nella cella di misura (chiamata soluzione "Bottom") e la soluzione meno densa (chiamata soluzione "Top") sia posizionata al di sopra della precedente.





**Figura 5-3** Cella di misura di un esperimento di diffusione.

Ottenuta questa condizione si procede a far diffondere spontaneamente il sistema e contestualmente si registra il profilo dell'indice di rifrazione nella cella in funzione del tempo. Conoscendo le condizioni iniziali e utilizzando le equazioni di Fick è possibile ottenere i coefficienti di mutua diffusione del sistema.

### **Sistemi binari PEG8000-Acqua, PVA-Acqua**

Come fase preliminare sono stati misurati alcuni valori dei coefficienti di mutua diffusione dei sistemi binari PEG8000-Acqua e PVA-Acqua a bassa concentrazione di polimero. Di seguito verrà riportata la procedura utilizzata per ottenere un valore di coefficiente di diffusione per un sistema binario.

Scelta una concentrazione  $\bar{C}$ , alla quale si voleva misurare il coefficiente di mutua diffusione  $D$ , sono state preparate per pesata (a partire da soluzioni stock di polimero così come descritto nei paragrafi precedenti) due soluzioni, la "Top" e la "Bottom", con concentrazione ( $\text{g L}^{-1}$ ) di polimero rispettivamente  $C_T$  e  $C_B$ , tale che:

$$\begin{aligned}\bar{C} - C_T &= \frac{\Delta C}{2} \\ C_B - \bar{C} &= \frac{\Delta C}{2}\end{aligned}\tag{5.2.1}$$

il valore  $\Delta C$  è stato scelto in modo tale,  $30 < R_p \Delta C \leq 50$ . Tale condizione ci permette di ottenere il miglior compromesso tra accuratezza dei risultati e tempi di misura per i sistemi in esame.

Di seguito verrà riportato per punti lo svolgersi dell'esperimento:

1. Preparazione della cella di misura
2. Posizionamento della cella nello strumento
3. Termostatazione del sistema a 25°C per un'ora
4. Scansione della linea di base.
5. Creazione dello strato limite tra le due soluzioni
6. Inizio della diffusione e registrazione dei profili di indice di rifrazione nella cella di misura in funzione del tempo.

L'output dello strumento consiste in un file nel quale sono registrate 20 funzioni

$f(j)$ , collegate al profilo di indice di rifrazione nella cella

$$f(j) = \text{erf}\left(\bar{z}_j / \sqrt{D_j}\right)\tag{5.2.2}$$

Dove  $\bar{z}_j$  è una variabile strumentale nella quale sono contenute informazioni sulla posizione nella cella e sul tempo di misura. Utilizzando i minimi quadrati è possibile ottenere il valore del coefficiente di mutua diffusione  $D$  relativo alla

concentrazione  $\bar{C}$  in esame. È possibile tuttavia calcolare per ogni valore di  $\bar{C}$  i corrispettivi valori di  $R$ , considerati in prima approssimazione costanti, utilizzando la relazione:

$$J = R\Delta C \quad (5.2.3)$$

dove  $J$  è il numero di frange d'interferenza e  $\Delta C$  è differenza di concentrazione tra la soluzione “top” e la “bottom”.  $J$  è un parametro di output dello strumento.

Sono stati ottenuti in questo modo i coefficienti di mutua diffusione  $D_{PEG8000}$ ,  $D_{PVA}$  e i valori  $R_{PEG8000}$ ,  $R_{PVA}$  relativi ai due sistemi binari per diversi valori di concentrazione.

### **Sistemi ternari PEG8000-PVA-Acqua**

Come enunciato precedentemente lo scopo di tali esperimenti è quello di determinare le concentrazioni in peso di PEG8000, e PVA nelle “fasi I” e “fase II” ottenute per smescolamento di una soluzione ternaria dei due polimeri. Di seguito verrà riportata la procedura utilizzata per determinare le concentrazioni in peso  $C'_{PEG8000}$ ,  $C'_{PVA}$  relative alla “fase I”. Resta chiaro che la stessa procedura è stata utilizzata per la “fase II”.

A partire dalla “fase I”, ottenuta precedentemente, è stata preparata una soluzione diluita della stessa prelevandone un'aliquota ed aggiungendo acqua. Successivamente ne è stata misurata la densità. Tale soluzione sarà utilizzata come soluzione “bottom” dell'esperimento di diffusione. Definiamo le nuove concentrazioni incognite in (g L<sup>-1</sup>)  $C^{d'}_{PEG8000}$ ,  $C^{d''}_{PVA}$ . La soluzione “top” di questo esperimento sarà semplicemente acqua.

È possibile, quindi, scrivere :

$$\begin{aligned}\Delta C_{PEG8000} &= C_{PEG8000}^{d'} \\ \Delta C_{PVA} &= C_{PVA}^{d'}\end{aligned}\quad (5.2.4)$$

Il numero di frange  $J$  sarà:

$$J = R_{PEG8000} C_{PEG8000}^{d'} + R_{PVA} C_{PVA}^{d'} \quad (5.2.5)$$

Lo scopo di tale diluizione è ottenere una soluzione sufficientemente diluita pur però avendo una concentrazione tale da avere un numero di frange sufficientemente alto ( $20 < J \leq 50$ ). Ovviamente non avendo informazioni sulla concentrazione dei polimeri nella “fase I” le stime iniziali spesso sono risultate scorrette costringendoci a preparare nuovamente le soluzioni.

L'esperimento è stato svolto seguendo lo stesso schema presentato nel caso di soluzioni binarie. Tuttavia l'analisi dell' "output" strumentale è alquanto differente.

In questo caso la funzione  $f(j)$  è la seguente:

$$f(j) = (a + b\alpha_1) \operatorname{erf}(\sqrt{\sigma_+} y) + (1 - a - b\alpha_1) \operatorname{erf}(\sqrt{\sigma_-} y) \quad (5.2.6)$$

Nell'ipotesi in cui non ci sia interazione specifica tra i soluti e si lavori a basse concentrazioni la (5.2.6) può essere scritta come<sup>[30]</sup>:

$$f(j) \approx \alpha_1 \operatorname{erf}(f(s^{PEG8000}) y) + (1 - \alpha_1) \operatorname{erf}(f(s^{PVA}) y) \quad (5.2.7)$$

dove

$$\alpha_1 = \frac{R_{PEG8000} C_{PEG8000}^{d'}}{R_{PEG8000} C_{PEG8000}^{d'} + R_{PVA} C_{PVA}^{d'}} \quad (5.2.8)$$

$$f(s^{PEG8000}) = (s_0^{PEG8000} + s_2^{PEG8000} y^2 + s_4^{PEG8000} y^4 + \dots) \quad (5.2.9)$$

$$f(s^{PVA}) = (s_0^{PVA} + s_2^{PVA} y^2 + s_4^{PVA} y^4 + \dots) \quad (5.2.10)$$

$$y = \frac{x_j}{2\sqrt{t}} \quad (5.2.11)$$

$f(s^{PEG8000})$  e  $f(s^{PVA})$  non sono altro che funzioni che possono essere ottenute dall'interpolazione di  $s_j = 1/\sqrt{D_j}$  in funzione di  $y^2$  per i sistemi binari. Operativamente le espressioni di tali coefficienti sono state ricavate a partire dai file di output di esperimenti eseguiti sui sistemi binari PEG8000-Acqua, PVA-Acqua. Risulta chiaro, a questo punto, che è possibile interpolare la funzione  $f(j)$  sperimentale del sistema ternario in funzione di  $y$  (avendo a disposizione  $f(s^{PVA})$  e  $f(s^{PEG8000})$  dai sistemi binari) utilizzando la (5.2.7) al fine di ottenere  $\alpha_1$ , grandezza collegata alla concentrazione dei polimeri in soluzione. A tale scopo è stato scritto un programma in MATLAB® (Appendice B). Ottenuta la migliore stima di  $\alpha_1$  ed avendo a disposizione un'ulteriore informazione, il numero di frange  $J$ , è possibile scrivere:

$$\begin{cases} J = R_{PEG8000} C_{PEG8000}^{d'} + R_{PVA} C_{PVA}^{d'} \\ \alpha_1 = \frac{R_{PEG8000} C_{PEG8000}^{d'}}{R_{PEG8000} C_{PEG8000}^{d'} + R_{PVA} C_{PVA}^{d'}} \end{cases} \quad (5.2.12)$$

risolvendo il sistema lineare di due equazioni in due incognite otteniamo:

$$C_{PEG8000}^{d'} = \frac{\alpha_1 J}{R_{PEG8000}} \quad (5.2.13)$$

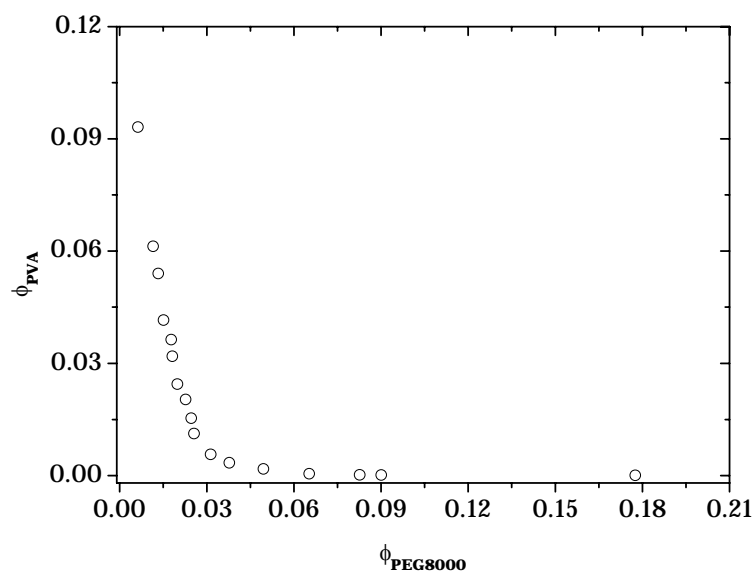
$$C_{PVA}^{d'} = \frac{(1 - \alpha_1) J}{R_{PVA}} \quad (5.2.14)$$

Conoscendo la densità della soluzione “bottom” e conoscendo il rapporto di diluizione è possibile risalire alla concentrazione in peso nella dei due polimeri “fase I”,  $C_{PEG8000}'$  e  $C_{PVA}''$ .

## 5.3 RISULTATI E DISCUSSIONE

### 5.3.1 Diagramma di fase PEG8000-PVA a 25°C.

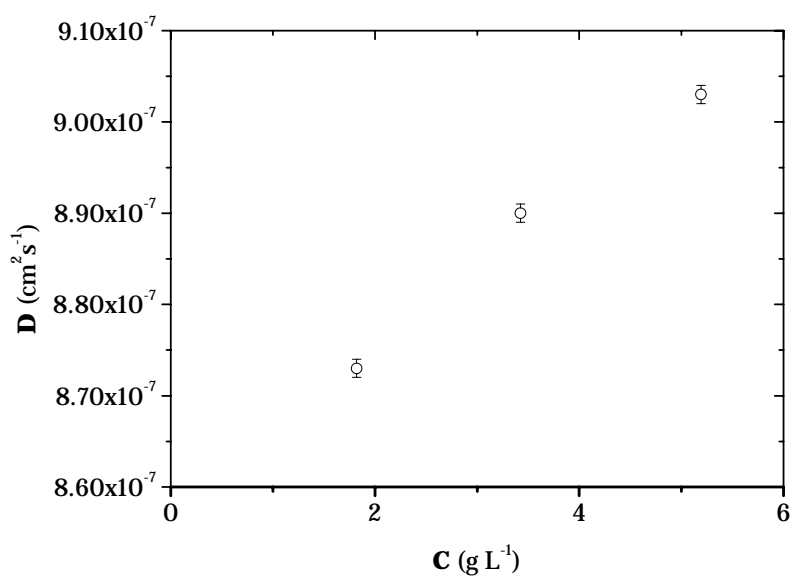
In Figura 5-4 è mostrato il diagramma di fase a 25°C del sistema ternario PEG8000-PVA-Acqua. Tale diagramma è stato ottenuto seguendo la procedura descritta precedentemente nel capitolo. La curva individuata dai punti in grafico rappresenta la binodale del sistema ternario a 25°C.



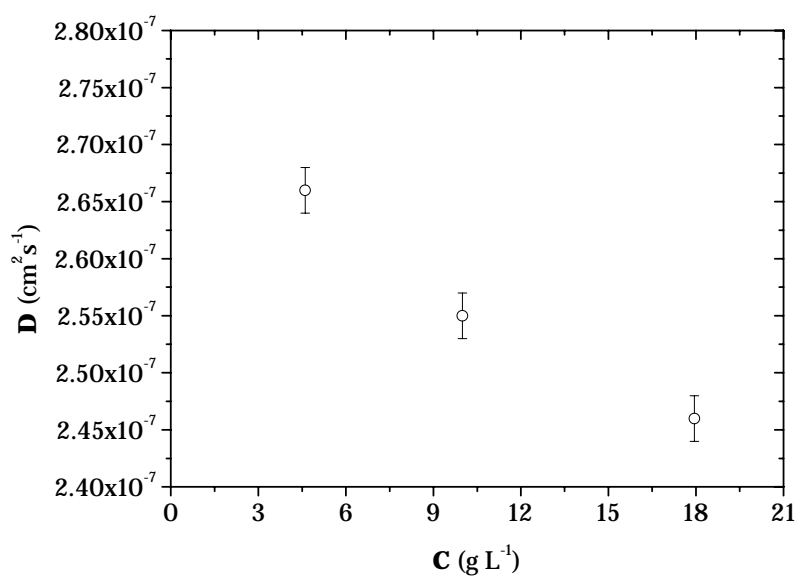
**Figura 5-4** Curva binodale a 25°C del il sistema PEG8000-PVA-Acqua

### 5.3.2 Determinazione di concentrazioni incognite utilizzando l'interferometro di Rayleigh

In Figura 5-5 e Figura 5-6 sono riportati i valori dei coefficienti di diffusione, rispettivamente, del sistema binario PEG8000-Acqua e PVA-Acqua. Tali dati, non particolarmente significativi in questa trattazione, sono necessari alla determinazione delle concentrazioni agli estremi delle “tie line”.



**Figura 5-5** Coefficienti di mutua diffusione del sistema binario PEG8000-Acqua

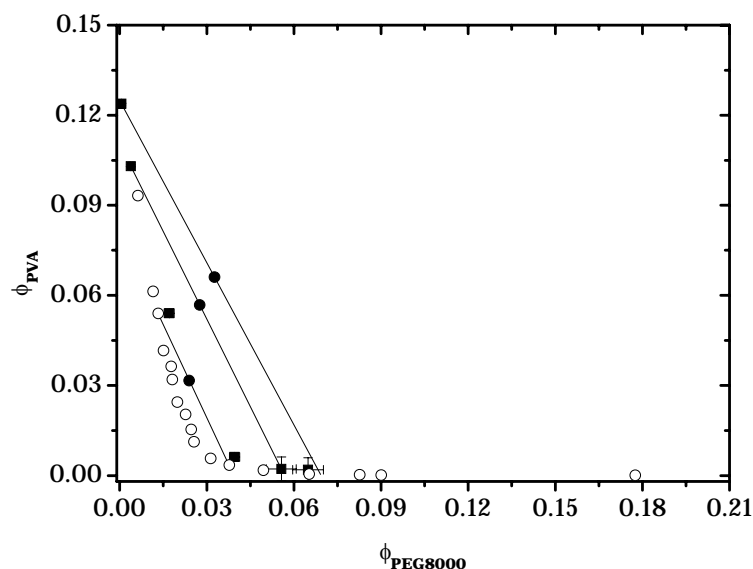


**Figura 5-6** Coefficienti di mutua diffusione del sistema binario PVA-Acqua

In Figura 5-7 sono riportate, insieme alla curva binodale, le sei composizioni agli estremi delle tre “tie line” ottenute mediante il procedimento descritto precedentemente in questo capitolo. Le tre “tie line”, le linee continue nel grafico,



sono state ottenute attraverso un'interpolazione lineare pesata dei tre punti sperimentali.



**Figura 5-7** Curva binodale e “tie line” del sistema PEG8000-PVA-Acqua

### 5.3.3 Determinazione di parametri d'interazione di Flory-Huggins

L'aspetto della curva binodale e delle “tie line” in Figura 5-7 ci permettono di comprendere solo qualitativamente la separazione di fase liquido-liquido di questi due polimeri in acqua. Supponendo che il sistema ternario PEG8000(2)-PVA(3)-Acqua(1) possa essere interpretato usando il modello di Flory-Huggins il processo di mescolamento e quindi le osservazioni sperimentali possono essere ricondotte (vedi capitolo 1) all'equazione (1.3.29):

$$\Delta G_{mix} = RT \left( n_1 \ln \phi_1 + n_2 \ln \phi_2 + n_3 \ln \phi_3 + n_1 \phi_2 \chi_{12} + n_1 \phi_3 \chi_{13} + n_2 \phi_3 \chi_{23} \right) \quad (1.3.29)$$

Quando il processo di separazione liquido-liquido di una soluzione instabile è terminato e le due fasi sono in equilibrio tra di loro il potenziale chimico di ogni singola specie in soluzione sarà lo stesso nelle due fasi. Scriveremo quindi:

$$\begin{aligned}
\mu_1' &= \mu_1'' \\
\mu_2' &= \mu_2'' \\
\mu_3' &= \mu_3''
\end{aligned} \tag{5.3.1}$$

Fissati per il sistema i parametri di Flory ( $\chi_{12}, \chi_{13}, \chi_{23}$ ) e i volumi ( $V_1, V_2, V_3$ ) tenendo presente la (1.3.30),  $\mu_1'$  sarà funzione di  $(\phi_1', \phi_2', \phi_3')$  e  $\mu_1''$  di  $(\phi_1'', \phi_2'', \phi_3'')$  che rappresentano le frazioni in volume, rispettivamente delle tre specie nella “fase I” e nella “fase II”.

La (5.3.1) ci mostra che le composizioni delle tre specie nelle due fasi devono essere tali da soddisfare tali uguaglianze. È possibile, conoscendo i tre parametri di interazione di Flory, costruirsi un diagramma di fase teorico a temperatura costante calcolando le composizioni che soddisfano tali uguaglianze<sup>[45]-[46]</sup>. Per ottenere le “tie line” bisogna determinare le sei frazioni in volume nelle due fasi. Il bilancio di materia  $\sum \phi_i = 1$  ci permette di ridimensionare il numero di incognite esprimendo la frazioni in volume di uno dei componenti nelle due fasi come funzione degli altri due. Assegnando arbitrariamente una variabile, per esempio  $\phi_2'$ , il problema si riduce nel calcolare tre variabili da un sistema di tre equazioni non lineari trascendentali. Tale sistema può essere risolto numericamente utilizzando la procedura proposta da Hsu e Prausnitz<sup>[46]</sup>. Tale procedura consiste nel trovare il minimo della funzione

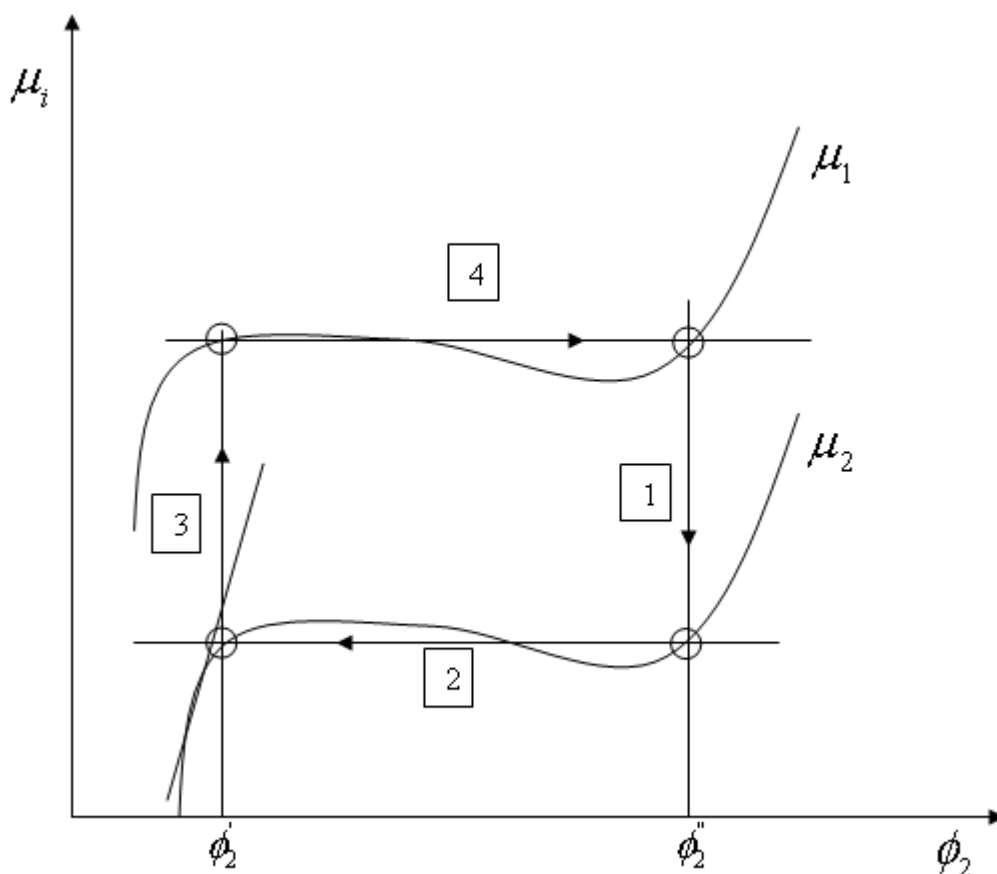
$$F = \sum f_i^2 \tag{5.3.2}$$

dove

$$\begin{aligned}
 f_1 &= \mu_1' - \mu_1'' \\
 f_2 &= \mu_2' - \mu_2'' \\
 f_3 &= \mu_3' - \mu_3''
 \end{aligned}
 \tag{5.3.3}$$

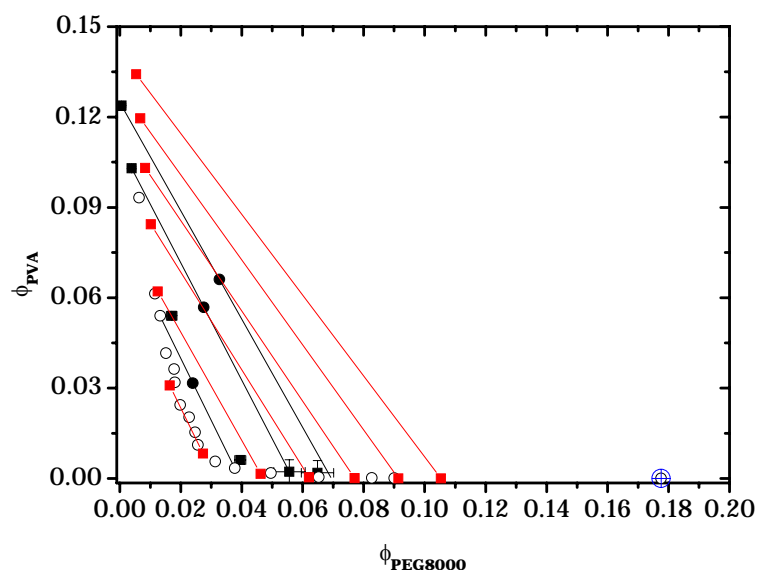
e le espressioni dei potenziali chimici sono date dalle (1.3.30), (1.3.31) e (1.3.32).

A causa di problemi computazionali connessi all'utilizzo di tale metodo si è scelto di utilizzare una procedura alternativa. Nel nostro caso, come nel caso precedente, lo scopo rimane quello di valutare (avendo assegnato i parametri di Flory) le sei frazioni molari a partire dalle uguaglianze della (5.3.1). Si è scelto come variabile arbitraria da fissare per il calcolo di ogni "tie line" (al posto della  $\phi_2'$  del metodo di Hsu e Prausnitz), il valore di  $\mu_3$ . Il processo iterativo, come mostrato schematicamente in Figura 5-8, consiste nel trovare una coppia di valori  $\phi_2', \phi_2''$  (ai quali sono associati attraverso un ciclo parallelo dei valori  $\phi_3', \phi_3''$ ) che soddisfano le uguaglianze della (5.3.1). Tale metodo è molto efficace e veloce e non è possibile, a differenza della procedura descritta precedentemente, imbattersi in soluzioni banali ( $\phi_i' = \phi_i''$ ) del sistema di equazioni (5.3.1)



**Figura 5-8** Schema del processo iterativo utilizzato per la costruzione del diagramma di fase PEG8000-PVA-Acqua

In Figura 5-9 sono riportate (in rosso) la curva binodale e le “tie line” teoriche insieme a quelle sperimentali (in nero). Per il calcolo della binodale è stato usato un valore di  $\chi_{13} = 0.49$ , un valore non costante  $\chi_{12} = 0.4005 \cdot \phi_2 \cdot 0.385$  [47], così come riportato in letteratura per il sistema binario PEG8000-Acqua, ed un valore per  $\chi_{23} = 0.2$ .



**Figura 5-9** Curva binodale e “tie line” sperimentali (in nero) e teoriche (in rosso)

#### 5.4 Considerazioni conclusive

Il dato fondamentale di tale studio è che il sistema ternario PEG8000-PVA-Acqua non mostra, come descritto per i sistemi PVA-Sale-Acqua, fenomeni di aggregazione bensì separazione di fase liquido-liquido. Anche a contatto con soluzioni a concentrazioni molto alte di PEG8000 il polialcol non precipita. La presenza del PEG8000 in soluzione non modifica sostanzialmente, come osservato nel caso dei sali, le interazioni polimero-acqua. Il metodo interferometrico innovativo, utilizzato per determinare le concentrazioni agli estremi delle “tie line”, è risultato molto efficace e utile nel caso di soluzioni polimeriche. Come mostrato, l'indagine sperimentale è stata affiancata da un approccio teorico volto a supportare quantitativamente le osservazioni sperimentali. Anche in questo caso è stato utilizzato un metodo nuovo per il calcolo teorico della curva binodale ed anche in questo caso il risultato è stato soddisfacente. Il modello matematico utilizzato per il calcolo delle “tie line” è risultato essere molto efficiente, permettendoci di “riprodurre” in maniera

soddisfacente quelle sperimentali. È da notare che il valore del parametro di Flory  $\chi_{12}$ , relativo all'interazione PEG8000-Acqua, seppur non costante con la concentrazione di PEG8000 è risultato assumere gli stessi valori sia nel sistema ternario che nel binario. Il parametro  $\chi_{23} = 0.2$ , relativo all'interazione polimero-polimero, è risultato abbastanza alto permettendoci di affermare, supportati anche dall'osservazione precedente, che la separazione liquido-liquido del sistema in esame è governata principalmente dalla interazione sfavorevole dei due polimeri. Tuttavia, un'indagine più approfondita, magari investigando gli effetti di PEG a diverso peso molecolare, è necessaria allo scopo di comprendere completamente il significato di tali parametri.

Anche in questo caso, il PEG potrebbe essere utilizzato in applicazioni tecnologiche a base di PVA essendo in grado di modulare la "capacità" di aggregazione del PVA.

## 6 CONCLUSIONI

Lo scopo di questo lavoro di tesi è stato quello di comprendere e caratterizzare il comportamento di fase del poli (vinilalcol) PVA in soluzione acquose in presenza di perturbanti. Tale studio ci ha permesso di comprendere, ed in alcuni casi quantificare, i complessi effetti che, sali o polimeri, hanno sul processo che porta alla formazione di strutture supramolecolari ad opera del PVA.

Si è mostrato, in primo luogo, che in presenza di un polimero carico, l'acido poliacrilico (PAA), soluzioni acquose di PVA mostrano fenomeni di separazione di fase e fenomeni di aggregazione massiva del polialcol. Purtroppo data la complessità del sistema non è stato possibile modulare questi processi, non siamo stati in grado di scomporre gli effetti dovuti alla presenza di carica sul PAA e quelli dovuti alla sua concentrazione. La nostra attenzione si è quindi focalizzata su sistemi più "semplici" costituiti da PVA e sali semplici e PVA e PEG8000, polimero non carico. Nel primo caso si è mostrato che il comportamento del PVA in soluzione acquosa in presenza di sali segue la serie di Hofmeister. Nel caso particolare del cloruro di sodio si è osservato che la destabilizzazione ad opera del sale delle interazioni tra polimero e solvente è sufficientemente blanda da permettere una lenta aggregazione del PVA, in soluzione, che porta alla formazione di nanostrutture di polimero. La formazione di tali nanodomini è stata caratterizzata attraverso esperimenti di "Dynamic Light Scattering" supportati da un modello cinetico teorico. Si è proceduto a testare con successo questi nano domini di PVA come "carriers" di molecole modello gettando le basi per un futuro utilizzo per il rilascio di principi attivi.

Di contro è stato mostrato che il PEG8000 ha un effetto molto diverso dai sali sul comportamento di fase del PVA. Non si assiste, in questo caso, a fenomeni di aggregazione ma piuttosto a separazione di fase liquido-liquido. Per questo sistema è stato realizzato il diagramma di fase a 25°C utilizzando un metodo innovativo: le concentrazioni agli estremi delle “*tie line*” sono state misurate valutando le proprietà diffusive delle specie in soluzione utilizzando una tecnica interferometrica. Si è scelto in questo caso di affiancare all’indagine sperimentale un studio teorico del diagramma di fase che ci ha permesso di ottenere i parametri di interazione di Flory. Tale approccio, pur permettendoci di comprendere le complesse interazioni in soluzione polimeri-acqua e polimero-polimero, rappresenta uno studio preliminare in quanto la molteplicità e complessità dei fenomeni in gioco ci impone ulteriori indagini.

Vista la necessità di creare, in campo tecnologico, sistemi sempre più complessi per il rilascio controllato di principi attivi di interesse farmacologico, tale studio getta le basi per una futura applicazione dei sistemi studiati.





## **7 APPENDICE A**

### **Interferometria Rayleigh per la determinazione dei coefficienti di diffusione**

#### **7.1 Introduzione**

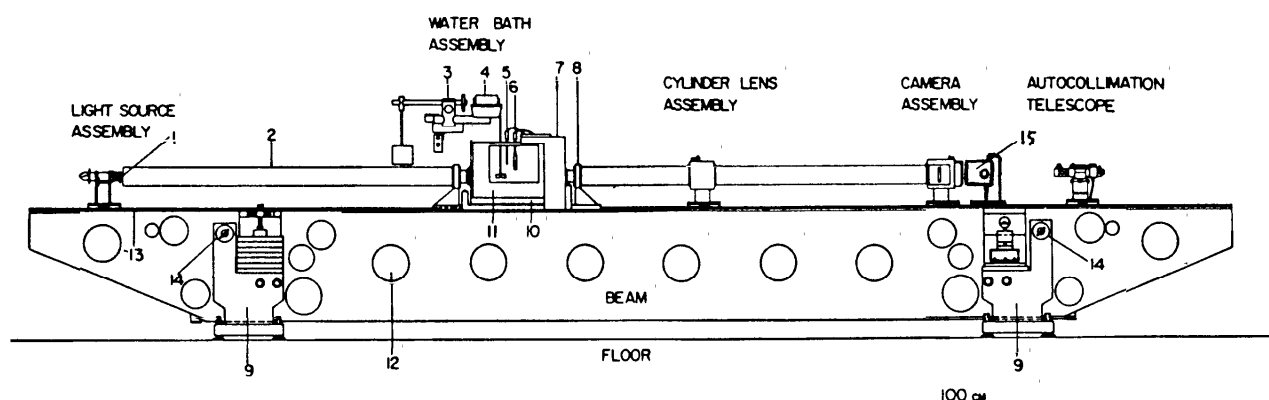
A partire dal 1960, il Dr. Louis J. Gosting, presso l' "Institute for Enzyme Research" di Madison, Wisconsin, diresse la progettazione e la realizzazione dell' diffusimetro ottico interferometrico allo scopo di misurare coefficienti di diffusione di sistemi liquidi multicomponente, con particolare interesse a soluzioni acquose di proteine. Purtroppo il Dr. Gosting morì nel Marzo del 1971 non riuscendo a vedere lo strumento completato. Lo strumento fu spostato al "Lawrence Livermore National Laboratory" dove, sotto la supervisione del Dr. Donald G. Miller, fu definitivamente completato. Nel 1991 l'interferometro fu riallocato presso la Texas Christian University affidato al Dr. John G. Albright e successivamente al Dr. Onofrio Annunziata.

Questo strumento, conosciuto come il "diffusimetro di Gosting", è tutt'oggi il migliore diffusimetro ottico interferometrico al mondo.

#### **7.2 Il diffusimetro di Gosting**

In Figura 7-1 è mostrato il profilo del diffusimetro di Gosting. E' possibile distinguere in figura il grande e pesante supporto in metallo (lungo 8.84 m e dal peso di 5000 Kg compreso il bagno ad acqua) che ha lo scopo di sostenere tutte le parti ottiche del sistema, la sorgente luminosa e il detector. Il sistema di sostegno è stato realizzato in modo da minimizzare, attraverso l'uso di leve e parti in

gomma, le possibili vibrazione che avrebbero comportato il disallineamento dei componenti ottici. Inoltre, al fine di salvaguardare ulteriormente la staticità, il bagno ad acqua ed i sistemi di alimentazione, agitazione e termostatazione sono alloggiati su un sostegno indipendente.



**Figura 7-1** Rappresentazione schematica del diffusiometro. 1) Sorgente luminosa, 2) tubo per minimizzare correnti d'aria lungo il cammino ottico, 3) Sostegno per l'agitatore del bagno, 4) Agitatore del bagno, 5) Sensore per il controllo della temperatura, 6) Punto caldo del bagno, 7) Porta Cella, 8) Finestra ottica, 9) Supporti antivibrazioni, 10) Sostegno del bagno ad acqua, 11) Bagno ad acqua, 12) Particolare dell'asse di sostegno dell'apparato ottico, 13) ..., 14) Dispositivo di controllo dell'allineamento del sostegno con l'asse ottico del sistema, 15) Detector

Questo interferometro ha sostanzialmente due modalità ottiche di funzionamento:

1. Interferometro di Gouy: al detector è possibile osservare una figura di interferenza che rappresenta la trasformata di Fourier della distribuzione del indice di rifrazione prodotta da uno strato limite in diffusione. La figura di interferenza è monodimensionale e si sviluppa lungo l'asse di diffusione.
2. Interferometro di Rayleigh: al detector è possibile osservare la distribuzione verticale dell'indice di rifrazione nella cella. La figura di

interferenza, in questo caso, è bidimensionale ed invertita verticalmente rispetto all'originale distribuzione degli indici di rifrazione nella cella.

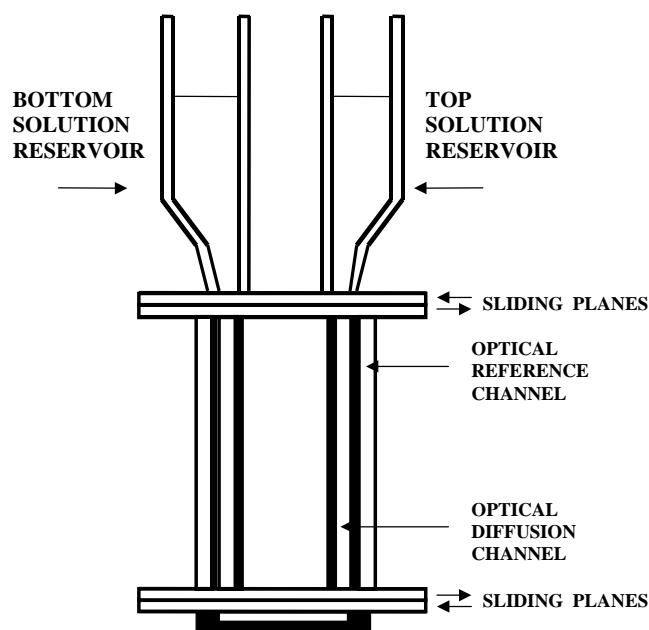
La sorgente luminosa è costituita da un Laser monofasico He-Ne da 0.5 mW con lunghezza d'onda pari a 546.1 nm. La lente principale è installata su un porta lente a sinistra del bagno ad acqua cosicché la cella di misura si trovi nel cono di convergenza della luce tra la lente stessa e il detector. Nel suo insieme la lente è composta da due lenti acromatiche separate, ottimizzate per le linee verde e blu dello spettro del mercurio. La lunghezza focale di questa lente è stata stimata in  $145.16 \pm 0.03$  cm.

La lente cilindrica è costituita da due lenti piano convesse di 7.5 cm di spigolo e 1.3 cm di spessore nella parte più spessa. La lunghezza focale della coppia è di 68.5 cm per la luce verde dello spettro del mercurio. Queste lenti sono montate in un sostegno mobile in modo da poter agevolmente cambiare la configurazione dello strumento da interferometro di Gouy ad interferometro di Rayleigh e viceversa.

La cella è posizionata nel bagno ad acqua stabilmente fissata ad un pesante porta celle al fine di minimizzare, durante l'esperimento, movimenti della cella stessa dovuti a vibrazioni ambientali.

Sul porta celle è inoltre montata, a monte della cella rispetto al percorso del raggio luminoso, una maschera di metallo sulla quale sono state praticate due fenditure verticali. Lo scopo di tali fenditure è quello di separare il raggio in due parti permettendo al primo di passare attraverso il canale di diffusione ed al secondo direttamente nel bagno ad acqua (riferimento).

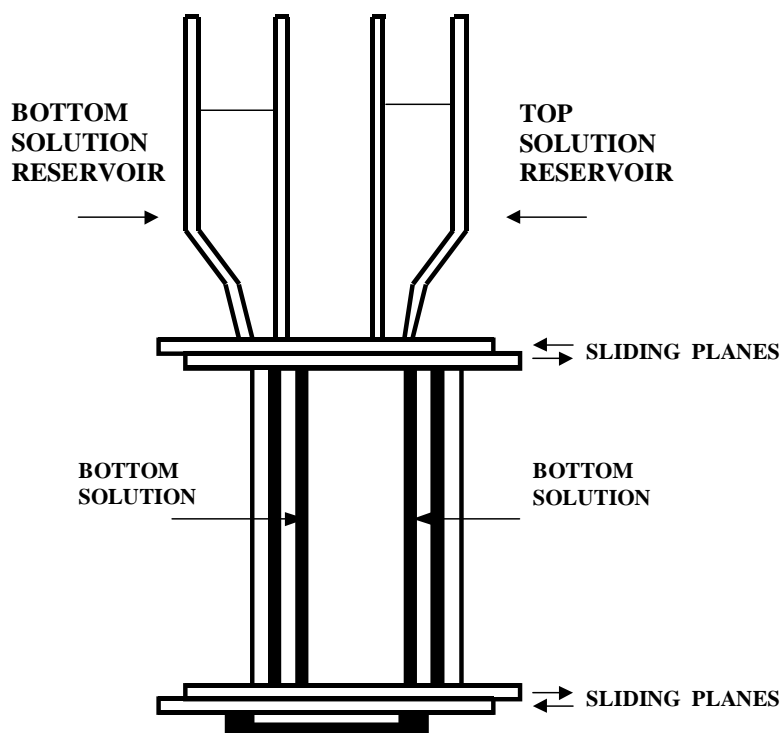
La cella è di tipo Tiselius progettata in origine per esperimenti di elettroforesi.



**Figura 7-2** Cella Tiselius

Nello specifico la cella è composta da tre pezzi singoli messi in contatto attraverso quattro superfici piane opportunamente ingrassate allo scopo di lubrificare (permettere, quindi, lo scorrimento orizzontale delle stesse) e sigillare (prevenire l'uscita di soluzione e, contestualmente, l'entrata dell'acqua dal bagno). Le soluzioni presenti nella cella possono essere messe in contatto (o isolate) facendo opportunamente slittare le due parti mobili della cella di misura. Il lato destro della parte centrale della cella è la porzione di cella nella quale durante l'esperimento avviene il processo diffusivo. Il raggio di riferimento passa appena a destra del canale di diffusione. Il cammino ottico della cella abitualmente utilizzata è  $a=2.505$  cm. Prima di procedere al riempimento della cella con le soluzioni di misura, la stessa viene montata e fissata al porta cella per mezzo di sostegni a vite. Mantenendo aperti tutti i canali di comunicazione della cella, viene versata nel serbatoio di sinistra la soluzione a maggiore densità (*"Bottom*

*solution*”) fino a riempire la parte mediana della cella. A questo punto le due parti mobili vengono fatte scorrere e i canali di comunicazione vengono chiusi.



**Figura 7-3** Riempimento della cella di misura

Successivamente è possibile completare il riempimento del serbatoio di sinistra con la soluzione “*Bottom*” ed ultimare le fasi preparative dell’esperimento riempiendo il serbatoio di destra con la soluzione meno densa (soluzione “*Top*”).

Le immagini di interferenza sono raccolte utilizzando un “*array*” di fotodiodi posto verticalmente (lungo 6 cm, 6000 pixel (10x10  $\mu\text{m}$  pixels) modello IL-C8-

6000-64) che può essere mosso orizzontalmente utilizzando un “*step motor*” micrometrico. Il “*software*” di gestione e di analisi è scritto in C++ per DOS.

Al rivelatore, l'immagine d'interferenza di Rayleigh, è lunga più di 6 cm e larga 2-3 mm la separazione orizzontale tra le frange è mediamente dell'ordine di 260  $\mu\text{m}$ . L'*array* di fotodiodi è montato su un disco rotante (controllato da una vite micrometrica) il cui asse di rotazione corrisponde all'asse ottico dello strumento. Tale accorgimento permette di allineare i fotodiodi verticalmente.

### **7.3 Esperimenti al diffusimetro di Gosting**

La procedura sperimentale può essere divisa in cinque parti.

- 1) Scansione della linea di base
- 2) Creazione dello strato limite
- 3) Scansione della frazione di frangia
- 4) Scansione dell'immagine di diffusione
- 5) Analisi dei dati

#### **7.3.1 Scansione della linea di base**

All'inizio dell'esperimento, il canale di diffusione è riempito con una soluzione omogenea (soluzione “*bottom*”). Dopo che la cella e le soluzioni abbiano raggiunto l'equilibrio termico con il bagno (normalmente si attendono 50 min dal posizionamento del portacelle nel bagno tenuto a 25°C) è possibile procedere alla scansione della linea di base e la registrazione della posizione delle frange. L'immagine dovrebbe essere costituita da frange lineari perfettamente verticali qualora il sistema ottico fosse perfetto. Tuttavia a causa di imperfezioni nei

componenti ottici (compresa la cella) le frange non appaiono come linee perfettamente verticali (l'ordine della deviazione è di circa  $20\text{ }\mu\text{m}$  lungo l'asse Y).

Al fine di correggere tale deviazione in sede di valutazione dell'immagine di diffusione è necessario conoscere l'entità della deviazione stessa per ogni pixel dell'"array" di fotodiodi.

Tale procedura ha inizio ponendo lo "*step motor*" nella posizione di zero. Successivamente, lo "*step motor*" muove l'"array" di fotodiodi in direzione dell'immagine di interferenza di Rayleigh e contestualmente vengono registrate le intensità della luce relative alle frange.

Quando l'"array" è in prossimità della posizione attesa per l'immagine d'interferenza di Rayleigh, il motore fa procedere lo stesso con incrementi di  $100\text{ }\mu\text{m}$ . Quando viene identificata la prima frangia, posizionata sulla destra dell'immagine di interferenza di Rayleigh, l'ampiezza degli incrementi è ridotta a  $10\text{ }\mu\text{m}$  ed il motore continua a muoversi verso sinistra fino a che non verrà identificata la frangia di interferenza più luminosa. A questo punto il motore riporta l'"array" indietro di circa  $130\text{ }\mu\text{m}$  (corrisponde a metà della distanza media tra due frange). Il fotodiodo centrale dell'"array" si trova adesso in corrispondenza del minimo di intensità luminosa a destra della frangia più luminosa identificata precedentemente. In linea di principio, il centro di ogni fotodiodo dovrebbe ora trovarsi nel minimo luminoso determinato dalla frangia più luminosa e quella immediatamente alla sua destra. Ciò ovviamente significherebbe che l'"array" di fotodiodi risulti perfettamente allineato verticalmente alle frange d'interferenza di Rayleigh. E' possibile, tuttavia, ottimizzare l'allineamento utilizzando una vite micrometrica che permette di operare una rotazione dell'"array" attorno ad un asse passante per il suo centro



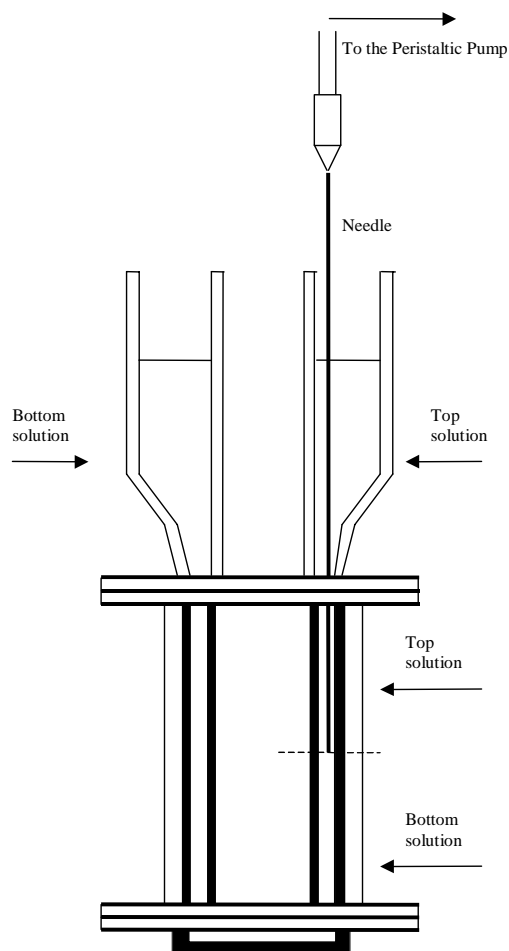
(coincidente con l'asse ottico dello strumento). Corrispondentemente ad ogni posizione della vite è possibile visualizzare il profilo dell'intensità luminosa l'ungo l'"array" laddove un profilo costante rappresenta un buon allineamento verticale. Una volta allineato, la rotazione dell'"array" resta la stessa durante tutto l'esperimento.

A questo punto lo "*step motor*" muove l'"array" 130  $\mu\text{m}$  a destra in corrispondenza della frangia a destra della frangia più luminosa. Questa posizione è la posizione di partenza per tutte le scansioni della linea di base. La scansione della linea di base consiste nel registrare i valori dell'intensità luminosa da una posizione di partenza fino a 530  $\mu\text{m}$  a sinistra di questa attraverso 54 singole scansioni con un passo di 10  $\mu\text{m}$ . Poiché la distanza tra due frange vicine è mediamente 260  $\mu\text{m}$  il profilo di intensità orizzontale di ogni pixel, raccolto durante una scansione della linea di base, includerà due minimi di intensità luminosa compresi tra tre frange adiacenti. La posizione dei minimi è calcolata interpolando sette punti di ogni minimo con una parabola, tale posizione, ottenuta per ogni pixel, è successivamente mediata per dare un valore della linea di base per quel pixel per quella scansione. La separazione media tra le frange è calcolata mediando il valore ottenuto per ogn'uno dei 6000 pixel. Normalmente la scansione della linea di base viene ripetuta quattro volte.

### **7.3.2 Formazione dello strato limite**

Il passaggio più importante per un esperimento al diffusimetro è la preparazione di una buona condizione iniziale dalla quale evoluzione verranno successivamente ricavate tutte le informazioni relative alla diffusività del sistema. Lo scopo è quello di mettere in contatto lungo l'asse verticale le due soluzioni nel canale di

diffusione. La soluzione più densa si troverà nella parte inferiore del ramo di misura e la soluzione meno densa in contatto con questa all'altezza del centro della cella (asse ottico) attraverso una superficie di contatto chiamata appunto strato limite. E' possibile ottenere una superficie uniforme operando delicatamente un aspirazione delle soluzioni presenti nella parte della cella interessate alla misura. In primo luogo verrà calato, fino all'altezza dell'asse ottico, un ago collegato ad una pompa peristaltica. A questo punto è possibile iniziare ad aspirare soluzione. Tale processo viene perpetrato per un tempo variabile che va dai 30 ai 120 minuti e normalmente in questo tempo viene aspirato un volume pari a circa 75 ml. Il processo di diffusione vero e proprio ha inizio nel momento in cui la parte inferiore della cella viene chiusa e l'ago velocemente rimosso. Successivamente viene chiusa anche la parte superiore della cella. A questo punto il ramo della cella interessato alla misura è separato dal resto del sistema. Per sistemi particolarmente viscosi questo processo necessita di particolari attenzioni e cure.



**Figura 7-4** Creazione dello strato limite

### 7.3.3 Scansione della frazione di frangia

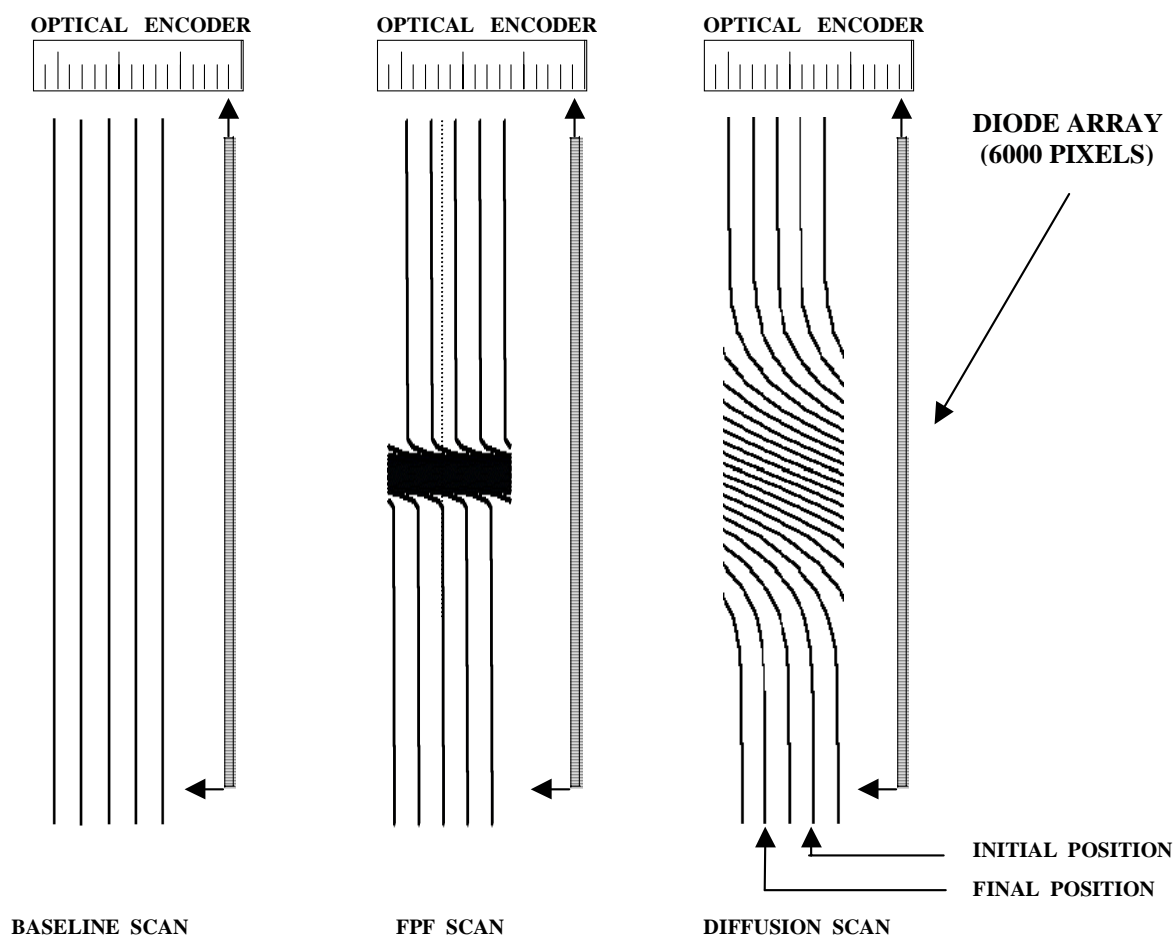
Non appena il processo diffusivo ha inizio ma quando ancora lo strato limite è visibile l'immagine di interferenza è registrata più volte al fine di ottenere la parte frazionaria del numero di frange (FPF). Durante una qualsiasi scansione durante l'esperimento vengono operati dal motore 49 incrementi di  $10\text{ }\mu\text{m}$  ciascuno lungo la direzione Y raccogliendo un'immagine di  $490\text{ }\mu\text{m}$  di larghezza. Dopo ogni scansione il vettore di fotodiodi verrà riportato nella posizione iniziale. La posizione dei minimi di intensità luminosa lungo la direzione verticale (direzione

del processo diffusivo), le frange scure, a partire dall'alto della cella e scendendo di 200 pixel e a partire dal basso della cella salendo di altrettanti 200 pixel vengono registrate. I valori così ottenuti verranno, in primo luogo, corretti per il valore ottenuto dalla scansione della linea di base e successivamente mediati restituendo I due valori medi dei rispettivi indici di rifrazione della soluzione top e della soluzione bottom. La differenza  $\delta$  tra le posizioni delle due frange è divisa per la il valore della distanza media tra due frange  $\Delta$  (registrata quando nella cella di misura era presente solo la soluzione “*bottom*”) restituendo il valore della parte frazionaria del numero di frange.

#### 7.3.4 Scansione dell'immagine di diffusione

Dopo un tempo sufficientemente lungo dall'inizio del processo diffusivo è possibile vedere chiaramente l'immagine delle frange. A questo punto si dispone di una risoluzione sufficiente per poter registrare le frange relative al processo diffusivo. Il tempo di attesa per raccogliere il primo fotogramma dipende dall'aberrazione ottica la quale diminuisce all'aumentare del tempo. Considerando una aberrazione ottica del terzo ordine il tempo di attesa dovrebbe essere  $t_i \geq 4.8 \times 10^{-6} J^{3/2} / D_A$ , ed il tempo complessivo di misura dovrebbe essere  $t_f \approx t_i + 3.5 t_i$  onde evitare che il sistema lasci un regime di diffusione libera.

Durante la misura vengono raccolti un numero di fotogrammi variabili (di solito 50), temporalmente equidistanziati gli uni dagli altri, seguendo la stessa procedura di scansione descritta per la determinazione della frazione di frangia.



**Figura 7-5** Esempi di scansioni di linea di base , FPF ed immagine di diffusione.

### 7.3.5 Analisi dei Dati

L'immagine di interferenza di Rayleigh rappresenta la distribuzione degli indici di rifrazione lungo l'asse Z. Tuttavia la proiezione della cella fino al piano del detector produce un ingrandimento e allo scopo di ottenere grandezze assolute è necessario scalare i valori delle posizioni relative alle due dimensioni lungo l'asse Z. Il fattore d'ingrandimento è facilmente determinabile proiettando, una tantum, una scala graduata posizionata all'interno della cella sul piano del detector. Il

rapporto tra la le dimensioni dell'immagine virtuale e quelle reali dell'oggetto rappresenta appunto il fattore di ingrandimento  $M$ .

La posizione delle frange dipende dal tempo in maniera tale da permetterci di esprimere  $Z$  in termini di una nuova variabile normalizzata  $z = \frac{Z}{2M\sqrt{t}}$ . Ogni scansione, come descritto precedentemente, viene effettuata attraverso un numero finito di scansioni lungo l'asse  $Y$ , le quali vengono raccolte a differenti valori di  $t$ , l'utilizzo della variabile normalizzata  $z$  ci permette di tenere conto di questo nella determinazione dei coefficienti di diffusione.

Le posizioni  $Y$  delle frange scure (i minimi di intensità luminosa) per tutti i 6000 pixel vengono convertite nei corrispondenti valori di  $j$ . Se attribuissimo all'indice di rifrazione della soluzione "*bottom*" la posizione di  $Y=0$  il valore di  $j$ , per un generico valore  $Z_j$ , sarebbe:

$$j = \frac{Y}{\Delta} + k \quad (7.3.1)$$

dove  $k$  è il numero di frange scure che attraversano la linea  $Y=0$  tra la posizione iniziale e il valore  $Z_j$ . Il numero totale di frange  $J$  è dato dal numero totale di intersezioni tra la linea  $Y=0$  e le frange scure addizionato al valore frazionario del numero di frange (FPF).

La funzione  $f(j)$  è calcolata e riportata come funzione della quantità normalizzata  $z_j$ . Successivamente viene applicato il metodo delle coppie di Creeth per 200 punti equidistanti  $f(j)$  distribuiti da  $-1$  e  $+1$  al fine di ottenere 100 punti corrispondenti alle posizioni medie  $\bar{z}_j$  secondo la relazione:

$$\bar{z}_j = \frac{1}{2} |z_j - z_{J-j}| \quad (7.3.2)$$

I valori  $f(j)$ , ora riportati in funzione di  $\bar{z}_j$ , con  $j$  che varia da  $J/2$  a  $J$  sono analizzati per produrre 100 coefficienti di diffusione locali  $D_j$  attraverso la:

$$f(j) = \text{erf} \left( \bar{z}_j / \sqrt{D_j} \right) \quad (7.3.3)$$

A causa della natura dei profili dell'indice di rifrazione solo i valori di  $D_j$  ottenuti tra valori di  $0.30 \leq f(j) \leq 0.86$  possono essere considerati accurate.

In principio sarebbe sufficiente, per ottenere i coefficienti di diffusione, un unico fotogramma, tuttavia, a causa delle imperfezioni dello strato limite, è nella pratica impossibile avere una buona stima del tempo trascorso tra una condizione iniziale ideale e la scansione in questione. A tale scopo vengono registrati un numero variabile di fotogrammi in funzione del tempo in modo da poter stimare il tempo corretto  $t$ . Il parametro  $\Delta t$  causato da una sottostima di  $t$ ,  $t' = t - \Delta t$ , è direttamente collegato alla stima non corretta  $D'_j$  di  $D_j$  attraverso la:

$$D_j t = t' D'_j \quad (7.3.4)$$

Allo stesso modo è possibile riscrivere l'equazione in termini di  $\bar{D}$  e  $\bar{D}'$  (medie sulle n scansioni):

$$\bar{D}' = \bar{D} \left( 1 + \frac{\Delta t}{t'} \right) \quad (7.3.5)$$

Dove il coefficiente angolare della retta  $\bar{D}'$  in funzione di  $1/t'$  rappresenta  $\Delta t$  e l'intercetta  $\bar{D}$ .

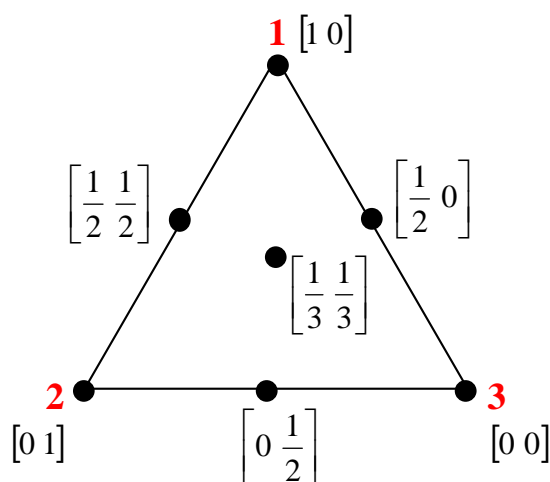
Per un sistema binario, il coefficiente di diffusione non è funzione di  $j$  e il valore medio di  $\bar{D}$  è riportato come risultato finale. Per sistemi multicomponente i valori di  $\bar{z}_j$  corretti per il valore  $\Delta t$  (con  $0.30 \leq f(j) \leq 0.86$ ) possono essere analizzati.

### 7.3.6 Analisi dei sistemi multicomponente

Mentre per un sistema binario un esperimento è sufficiente per ottenere l'unico coefficiente di diffusione per un generico sistema multicomponente il numero di esperimenti da portare a termine in certe condizioni sperimentali  $\alpha$  è direttamente correlata al corrispondente numero dei coefficienti di diffusione necessari per la caratterizzazione del trasporto. Quindi almeno due esperimenti sono necessari per un sistema ternario e tre per un sistema quaternario. Per ragioni statistiche, tuttavia, il numero di esperimenti è sicuramente maggiore diventato rispettivamente 4 e sette per i sistemi descritti prima. La scelta delle condizioni sperimentali  $\alpha$  è inoltre regolata a necessità statistiche. Nel caso di un sistema ternario l'ortogonalità è stata considerata come un criterio per l'ottimizzazione statistica cosicché viene eseguito un esperimento a  $\alpha_1 = 0$  e due a



$\alpha_1=1$ . Per un sistema quaternario lo svolgersi degli esperimenti è specificato da un vettore  $\alpha \equiv [\alpha_1 \ \alpha_2]$  e le condizioni scelte sono riassunte nella figura



**Figura 7-6** Diagramma correlato alle condizioni operative di misura per un sistema quaternario

In alcuni casi, in relazione a problemi di instabilità gravitazionale e di instabilità termodinamica è necessario scegliere dei differenti valori di  $\alpha$ , e molto spesso limitati a regioni molto ristrette.

### 7.3.7 Instabilità dello strato limite

La presenza di un campo gravitazionale lungo l'asse Z durante la misura di diffusione costringe ad introdurre alcune restrizioni per quanto riguarda la scelta delle soluzioni di misura. Nel caso semplice di un sistema binario l'unica precauzione è posizionare la soluzione più densa al disotto di quella meno densa. Per un sistema multicomponente tuttavia questa condizione può non essere sufficiente per lo svolgimento corretto di una misura. Nel caso, per esempio, di un

sistema ternario l'esistenza di due flussi rende molto più complessa la descrizione dei criteri di stabilità.

L'instabilità statica occorre quando il processo di diffusione è causa di un inversione di densità locale allo strato limite tale situazione è scongiurata quando per ogni posizione  $Z$  e ad ogni tempo  $t$ , la condizione  $\frac{\partial \rho}{\partial Z} > 0$  è verificata ( $\rho$  è la densità).

L'instabilità dinamica rappresenta quella condizione che si verifica quando dal processo diffusivo nasce e si accresce nel tempo un moto vorticoso. Quando l'instabilità dinamica si presenta al centro dello strato limite la si chiama "*Fingering*" ed è causata da fluttuazioni casuali di velocità che portano al trasferimento di parti di soluzione in regioni a differente densità. Il processo diffusivo che ne segue può appunto cambiare la densità nelle zone in cui c'è stato il trasferimento di soluzione con conseguente formazione di "*Fingers*". Esiste un tipo di instabilità gravitazionale dinamica di un altro tipo che si presenta alle estremità dello strato limite. Quando il processo diffusivo comincia può accadere che, appena sopra lo strato limite si formi uno strato di fluido con densità inferiore a quello della soluzione soprastante producendo un effetto di lavaggio dello strato limite che mantiene appunto la regione di separazione stabile per un lungo lasso di tempo. Per questo motivo questo tipo di instabilità è conosciuta come "*Overstability*".

## 8 APPENDICE B

### Calcolo della curva binobale del sistema PEG8000-PVA-Acqua

Di seguito è riportato il codice MATLAB® utilizzato per calcolare le composizioni in frazioni in volume di un sistema PEG8000-PVA-Acqua in corrispondenza della curva binodale a partire dai parametri di interazione di Flory.

Il codice completo è costituito dalle seguenti parti:

BinodalPEG (main program)

F2calc1 (subroutine)

F2calc2 (subroutine)

#### BinodalPEG

```
% calculate F1I, F1II, F2I and F2II for PEG
% they are called pF1I, pF1II, pF2I, pF2II in this code
% based on ternary Flory-Huggings equation
MU2=[]; pF1I=[]; pF1II=[]; pF2I=[]; pF2II=[];
U1I=[]; U1II=[]; U2I=[]; U2II=[]; U0I=[]; U0II=[];
U2c=[]; C1=[];

%_____
% physicochemical parameters

C10=0.4005; C10=0.4005;
dC1=0.385; dC1=0.385;
ga=C10+0.5*dC1;
gb=0.5*dC1;

C2=.49;
C12=0.2;
% C120=0.05; dC12=0.2;

P1=444;
```

```

P2=5830;
%_____

%_____
% range of U2 values
MU2min=-3000;
MU2max=MU2min+100;

%number of tie lines
ntl=10;
MU2=linspace(MU2min,MU2max,ntl);

%values of U2 to use
%[MU2min MU2max]=findU2(C1,C2,C12,P1,P2); TO BUILD???
%_____

%computer parameters
iter=10000;
toll=1e-10;
F1min=eps*1000;
F1max=0.7;
F1_1st_low=F1min;
F1_2nd_low=2*F1min;
stop_program=0;

for itl=1:ntl
    U2=MU2(ntl+1-itl);
    'tie line ='
    itl
    'chem. pot. 2='
    U2
    '_____'

    contr=0;
    dF1=1e-3;

    % compute U0 ( F1, U2 ) and find minimum
    % choose seed F1(II) just on the right of the minimum

    F1=F1min; C1=ga+2*gb*F1;

    U0_peak=inf; % just a starting value for comparing
    U0=0; % just a starting value for comparing

    for i=1:iter
        vU0=U0;
        [F2]=F2calc1(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
        F0=1-F1-F2;
        % U0 is [osmotic pressure] = -[the solvent chemical potential]
        C1=ga+gb*F1*(1-2*F0)/(1-F0);
        U0=-(log(F0)+(1-1/P1)*F1+(1-1/P2)*F2+(1-F0)*(C1*F1+C2*F2)-C12*F1*F2);

        if i==1
            U0_initial=U0; %initial value of U0
        end
    end
end

```

```

if U0<vU0 & contr==0 % maximum found
    contr=1;
    U0_peak=vU0;
end

if U0>vU0 & contr==1 % minimum found
    dF1=dF1/10;
    contr=2;
end

if U0>U0_peak & contr==2 % do not exceed value of U0 at max

    F1l=F1-dF1;
    F1_1st_high=F1+dF1;
    F1_2nd_high=F1;
    break
end

if F1>F1max
    stop_program=1;
    itl=itl-1;
    'minimum not found'
    break
end

F1=F1+dF1; C1=ga+2*gb*F1;

end

if stop_program==1
    break
end
% at this stage we have an initial estimate of F1(II)

% _____
% cycle for F1(II) convergence
F1l=F1_1st_low;
for k=1:iter

    vvF1l=F1l;
    vvF1l=F1l;

    % calculate U1 with these values of F1(II) and F2(II)(U2)
    F1=F1l; C1=ga+2*gb*F1;
    [F2]=F2calc1(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
    F2l=F2;
    F0=1-F1-F2;
    U1=log(F1)+(1-P1)*F0+(1-P1/P2)*F2+P1*(1-F1)*(C1*F0+C12*F2)-P1*C2*F0*F2;

    % we now need to calculate F1(I) corresponding to
    % the same values of U1 and U2

    % we start by calculating U1 for two low values of F1
    F1=F1_1st_low; C1=ga+2*gb*F1;

```

```

[F2]=F2calc2(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
F0=1-F1-F2;
U1_1st=log(F1)+(1-P1)*F0+(1-P1/P2)*F2+P1*(1-F1)*(C1*F0+C12*F2)-P1*C2*F0*F2;

F1=F1_2nd_low; C1=ga+2*gb*F1;
[F2]=F2calc2(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
F0=1-F1-F2;
U1_2nd=log(F1)+(1-P1)*F0+(1-P1/P2)*F2+P1*(1-F1)*(C1*F0+C12*F2)-P1*C2*F0*F2;

slope=(U1_2nd-U1_1st)/(F1_2nd_low-F1_1st_low);

U1_left=U1_2nd;
F1_left=F1_2nd_low;
% we now calculate F1(l)
for i=1:iter
    vF1=F1_left;
    F1=F1_left+(U1-U1_left)/slope; C1=ga+2*gb*F1;

    err=abs((F1-vF1)/F1);
    if err<toll
        F1l=F1;
        [F2]=F2calc2(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
        F2l=F2;
        break
    end

    [F2]=F2calc2(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
    F0=1-F1-F2;
    U1_right=log(F1)+(1-P1)*F0+(1-P1/P2)*F2+P1*(1-F1)*(C1*F0+C12*F2)-P1*C2*F0*F2;
    slope=(U1_right-U1_left)/(F1-F1_left);
    F1_left=F1;
    U1_left=U1_right;

end

if i==iter
    'exceeded iterations to determine F1(l) in MU1'
end

% we now calculate U0 at F1(l)
F1=F1l; C1=ga+2*gb*F1;
[F2]=F2calc2(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
F0=1-F1-F2;
C1=ga+gb*F1*(1-2*F0)/(1-F0);
U0=-(log(F0)+(1-1/P1)*F1+(1-1/P2)*F2+(1-F0)*(C1*F1+C2*F2)-C12*F1*F2);

% we now want to determine F1(II) at this calculated U0
% we start by taking two high values of F1

F1=F1_1st_high; C1=ga+2*gb*F1;
[F2]=F2calc1(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
F0=1-F1-F2;
C1=ga+gb*F1*(1-2*F0)/(1-F0);
U0_1st=-(log(F0)+(1-1/P1)*F1+(1-1/P2)*F2+(1-F0)*(C1*F1+C2*F2)-C12*F1*F2);

F1=F1_2nd_high; C1=ga+2*gb*F1;
[F2]=F2calc1(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
F0=1-F1-F2;

```

```

C1=ga+gb*F1*(1-2*F0)/(1-F0);
U0_2nd=-(log(F0)+(1-1/P1)*F1+(1-1/P2)*F2+(1-F0)*(C1*F1+C2*F2)-C12*F1*F2);

slope=(U0_2nd-U0_1st)/(F1_2nd_high-F1_1st_high);

U0_right=U0_2nd;
F1_right=F1_2nd_high;
% we now calculate F1(II)
for i=1:iter
    vF1=F1_right;
    F1=F1_right+(U0-U0_right)/slope; C1=ga+2*gb*F1;
    err=abs((F1-vF1)/F1);
    if err<toll
        F1II=F1;
        [F2]=F2calc1(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
        F2II=F2;
        break
    end

    [F2]=F2calc1(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
    F0=1-F1-F2;
    C1=ga+gb*F1*(1-2*F0)/(1-F0);
    U0_left=-(log(F0)+(1-1/P1)*F1+(1-1/P2)*F2+(1-F0)*(C1*F1+C2*F2)-C12*F1*F2);
    slope=(U0_left-U0_right)/(F1-F1_right);
    F1_right=F1;
    U0_right=U0_left;

end

if i==iter
    'exceeded iterations to determine F1(II) in MU0'
end

% we check whether F1II is the same as that of the previous cycle
% if yes, we can calculate the tie-line for this value of U2
% and break the cycle
err=max([abs((F1II-vvF1II)/F1II) abs((F1I-vvF1I)/F1I)]);

if err<toll
    pF1I(ntl+1-itl)=F1I;
    F1=F1I; C1=ga+2*gb*F1;
    [F2]=F2calc2(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
    pF2I(ntl+1-itl)=F2;
    pF1II(ntl+1-itl)=F1II;
    F1=F1II; C1=ga+2*gb*F1;
    [F2]=F2calc1(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2);
    pF2II(ntl+1-itl)=F2;
    break
end

end

if stop_program==1
    break
end

end

'tie lines'
pF1I=pF1I(ntl-itl+1:ntl)

```

```

pF1l=pF1l(ntl-itl+1:ntl)
pF2l=pF2l(ntl-itl+1:ntl)
pF2ll=pF2ll(ntl-itl+1:ntl)

mF1=(pF1l+pF1ll)/2; % coordinate of middle point
mF2=(pF2l+pF2ll)/2; % coordinate of middle point
DF1=pF1l-pF1ll; % delta volume fraction of 1
DF2=pF2l-pF2ll; % delta volume fraction of 2

A1=polyfit(DF1.^2,mF1,4); F1c=A1(5); %critical point extrapol
A2=polyfit(DF2.^2,mF2,4); F2c=A2(5);

F1=pF1l; C1=ga+2*gb*F1;
F2=pF2l;
F0=1-F1-F2;
U1l=log(F1)+(1-P1)*F0+(1-P1/P2)*F2+P1*(1-F1).*(C1.*F0+C12.*F2)-P1*C2*F0.*F2;
U2l=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2).*(C2.*F0+C12.*F1)-P2*C1.*F0.*F1;
C1=ga+gb*F1.*(1-2*F0)./(1-F0);
U0l=-(log(F0)+(1-1/P1)*F1+(1-1/P2)*F2+(1-F0).*(C1.*F1+C2.*F2)-C12.*F1.*F2);
F1=pF1ll; C1=ga+2*gb*F1;
F2=pF2ll;
F0=1-F1-F2;
U1ll=log(F1)+(1-P1)*F0+(1-P1/P2)*F2+P1*(1-F1).*(C1.*F0+C12.*F2)-P1*C2*F0.*F2;
U2ll=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2).*(C2.*F0+C12.*F1)-P2*C1.*F0.*F1;
C1=ga+gb*F1.*(1-2*F0)./(1-F0);
U0ll=-(log(F0)+(1-1/P1)*F1+(1-1/P2)*F2+(1-F0).*(C1.*F1+C2.*F2)-C12.*F1.*F2);
'max delta chem'
DU1=max(U1ll-U1l)
DU2=max(U2ll-U2l)
DU0=max(U0ll-U0l)
'critical point'
F1c
F2c

F2=F2c;
F1=F1c; C1=ga+2*gb*F1;
F0=1-F1-F2;
U2c=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2).*(C2.*F0+C12.*F1)-P2*C1.*F0.*F1;
U2c

%Experimental data
x=[0.022742994 0.024697079 0.031359841 0.017799813 0.013252945
0.037753875 0.006320533 0.049532341 0.014114119 0.019854039
0.01147992 0.065298347 0.082639756 0.09004955 0.020719276
0.015149657 0.025655289 0.018100901];
y=[0.02033996 0.01530181 0.005648472 0.036322284 0.053991995 0.003419882
0.093171076 0.001789613 0.038303415 0.024416667 0.061290264
0.000440858 0.000203824 0.000119528 0.025940881 0.041571751
0.011197197 0.031911791];

t1x=[0.056111908 0.003870471];
t1y=[0.001226355 0.102991596];
t2x=[0.037711017 0.013227017];
t2y=[0.003412179 0.053968077];
t3x=[0.069193535 0.000566019];
t3y=[0.000387579 0.123819626];

```



```
plot(x,y,'.',t1x,t1y,t2x,t2y,t3x,t3y,pF1l,pF2l,'o',pF1ll,pF2ll,'o',mF1,mF2,'x',F1c,F2c,'*'),text(0.06,0.1,'
C1=','FontSize',12), text(0.08,0.1,'C10+dC1*F1','FontSize',12), text(0.06,0.09,'C2=','FontSize',12),
text(0.08,0.09,num2str(C2),'FontSize',12), text(0.06,0.08,'C12=','FontSize',12),
text(0.08,0.08,num2str(C12),'FontSize',12), zoom,grid
```

## F2calc1

```
function [F2]=F2calc1(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2)

F2_1st_low=eps;
F2_2nd_low=2*F2_1st_low;
itF2=10000;
tolIF2=1e-10;

F2=F2_1st_low;
F0=1-F1-F2;
U2_1st_low=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2)*(C2*F0+C12*F1)-P2*C1*F0*F1;
F2=F2_2nd_low;
F0=1-F1-F2;
U2_2nd_low=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2)*(C2*F0+C12*F1)-P2*C1*F0*F1;
slope=(U2_2nd_low-U2_1st_low)/(F2_2nd_low-F2_1st_low);

U20=U2_2nd_low;
F20=F2_2nd_low;

for i2=1:itF2
    vF2=F2;
    F2=F20+(U2-U20)/slope;
    errF2=abs((F2-vF2)/F2);
    if errF2<tolIF2
        break
    end

    if F2<0 | F2==NaN
        F2=exp(-U2);
        break
    end

    F20=F2;
    F0=1-F1-F2;
    U2old=U20;
    U20=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2)*(C2*F0+C12*F1)-P2*C1*F0*F1;
    slope=(U20-U2old)/(F20-vF2);
end
F2=real(F2);
if i2==itF2
    'number of F2 iterations exceeded (approached from low F2)'
    F2
    F2=eps;
end
```

## F2calc2

```
function [F2]=F2calc2(U2,F1,C1,C2,C12,P1,P2)

F2_1st_high=1-eps;
F2_2nd_high=1-2*eps;
```

```

itF2=10000;
tolIF2=1e-10;

F2=F2_1st_high;
F0=1-F1-F2;
U2_1st_high=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2)*(C2*F0+C12*F1)-P2*C1*F0*F1;
F2=F2_2nd_high;
F0=1-F1-F2;
U2_2nd_high=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2)*(C2*F0+C12*F1)-P2*C1*F0*F1;
slope=(U2_2nd_high-U2_1st_high)/(F2_2nd_high-F2_1st_high);

U20=U2_2nd_high;
F20=F2_2nd_high;

for i2=1:itF2
    vF2=F2;
    F2=F20+(U2-U20)/slope;
    errF2=abs((F2-vF2)/F2);
    if errF2<tolIF2
        break
    end
    F20=F2;
    F0=1-F1-F2;
    U2old=U20;
    U20=log(F2)+(1-P2)*F0+(1-P2/P1)*F1+P2*(1-F2)*(C2*F0+C12*F1)-P2*C1*F0*F1;
    slope=(U20-U2old)/(F20-vF2);
end
F2=real(F2);
if i2==itF2
    'number of F2 iterations exceeded (approached from high F2)'
    F2
    F2=eps;
end

```

## Bibliografia

- [1]. Finch, C.A.; *Poly(Vinyl Alcohol) Developments*. 1992: John Wiley and Sons; New York, U.S.A.
- [2]. Bunn, C.W.; *Nature*, **1948**, *161*, 929-930.
- [3]. Bunn, C.W.; *Nature*, **1947**, *159*, 161-162.
- [4]. Pines, E.; Prins, W.; *Macromolecules*, **1973**, *6*, 888-895.
- [5]. Komatsu, M.; Inoue, T.; Miyasaka, K.; *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, **1986**, *24*, 303-311.
- [6]. Nijenhuis, K.; *Thermoreversible Networks. Viscoelastic Properties and Structure of Gels. Series: Advances in Polymer Science*. Vol. 130. 1992: Springer-Verlag Ed., Berlin, Germany.
- [7]. Morawetz, H.; *Macromolecules in solution*. 1975: John Wiley and Sons; New York, U.S.A.
- [8]. Wu, W.L.; Shibayama, M.; Roy, S.; Kurokawa, H.; Coyne, L.D.; Nomura, S.; Stein, R.S.; *Macromolecules*, **1990**, *23*, 2245-2251.
- [9]. Wu, W.L.; Kurokawa, H.; Roy, S.; Stein, R.S.; *Macromolecules*, **1991**, *24*, 4328-4333.
- [10]. Kanaya, T.; Ohkura, M.; Kaji, K.; Furusaka, M.; Misawa, M.; *Macromolecules*, **1994**, *27*, 5609-5615.
- [11]. Kanaya, T.; Takeshita, H.; Nishikoji, Y.; Ohkura, M.; Nishida, K.; Kaji, K.; *Supramolecular Science*, **1998**, *5*, 215-221.
- [12]. Kanaya, T.; Ohkura, M.; Takeshita, H.; Kaji, K.; Furusaka, M.; Yamaoka, H.; Wignall, G.D.; *Macromolecules*, **1995**, *28*, 3168-3174.
- [13]. Takeshita, H.; Kanaya, T.; Nishida, K.; Kaji, K.; *Physica B: Condensed Matter (Amsterdam, Netherlands)*, **2002**, *311*, 78-83.
- [14]. Takeshita, H.; Kanaya, T.; Nishida, K.; Kaji, K.; *Macromolecules*, **1999**, *32*, 7815-7819.
- [15]. Ricciardi, R.; Gaillet, C.; Ducouret, G.; Lafuma, F.; Lauprêtre, F.; *Polymer*, **2003**, *44*, 3375-3380.
- [16]. Ricciardi, R.; Auriemma, F.; De Rosa, C.; Lauprêtre, F.; *Macromolecules*, **2004**, *37*, 1921-1927.

- [17]. Peppas, N.A.; Mongia, N.K.; *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **1997**, 43, 51-58.
- [18]. Hassan, C.M.; Peppas, N.A.; *Advances in Polymer Sciences*, **2000**, 153, 37-65.
- [19]. Lozinsky, V.I.; *Russian Chemical Reviews*, **1998**, 67, 573-586.
- [20]. Munk, P.; Aminabhavi, T., M.; *Introduction to Molecular Science 2<sup>nd</sup> Ed.*, **2002**, John Wiley and Sons; New York, U.S.A.
- [21]. Flory, P., J.; *Principles of Polymer Chemistry*, **1953**, Cornell University Press, New York.
- [22]. Clark, A., H.; *Carbohydrate Polymers*, **2000**, 42, 227-251.
- [23]. Philipot, J. L.; Cook, G. H., *Research*, **1948**, 1, 234.
- [24]. Miller, D. G.; Albright, J. G.; In *Measurement of the Transport Properties of Fluids: Experimental Thermodynamics*; Wakeham, W. A., Nagashima, A., Sengers, J. V., Eds., Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1991; p. 272.
- [25]. Gosting, L. J.; Fujita, H; *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 1359.
- [26]. Fujita, H.; Gosting, L. J.: *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 1099.
- [27]. Creeth, J. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 6428.
- [28]. Creeth, J. M.; Gosting, L. J. *J. Phys. Chem.* **1958**, 62, 58.
- [29]. Creeth, J. M.: *J. Phys. Chem.* **1958**, 62, 66.
- [30]. Miller, D. G.; *J. Phys. Chem.* **1988**, 92, 4222.
- [31]. Tanford, C.; *Physical Chemistry of Macromolecules*; John Wiley & Sons: New York, NY, 1961.
- [32]. George, A. ; Wilson, W. W.; *Acta Crystallogr., Sect. D* **1994**, 50, 2736.
- [33]. Stockmayer, W. H.; *J. Chem. Phys.* **1950**, 18, 58.
- [34]. Berne, B. J.; Pecora, R.; *Dynamic Light Scattering*, Wiley-Interscience, New York, 1976.
- [35]. Schmitz, K. S.; *An Introduction to Dynamic Light Scattering by Macromolecules*, Academic Press, San Diego, 1990.
- [36]. Phillies, G. D. G. *Anal. Chem.* **1990**, 62, 1049 A.

- [37]. Santos, N. C.; Castanho, M. A. R. B.; *Biophys. J.* **1996**, *71*, 1641.
- [38]. Pusey, P. N.; Tough, R. J. A.; In *Dynamic Light Scattering: Applications of Photon Correlation Spectroscopy*, Pecora, R., Eds.; Plenum Press: New York, 1985; p. 85.
- [39]. Koppel, D. E.; *J. Chem. Phys.* **1972**, *57*, 4814.
  
- [40]. Marra, P. S.; Ramesh, K. T.; Douglas, A. S.; **2001**, *Material Science and Engineering C*, *14*, 25-34
- [41]. Lipatov, Y. S.; Alekseeva T. T.; **2007**, *Advances in Polymer Science*, *208*, 1-227
- [42]. Nho, Y.; Park S.; Kim, H.; Hwang, T.; **2005**, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, *236*, 283-288
- [43]. Jianqi, F.; Lixia, G.; **2002**, *European Polymer Journal*, *28*, 1653-1658
- [44]. Mangiapia, G. et al.; **2007**, *J. Phys. Chem. B*, *111*, 2166-2173
  
- [45]. Altena, F. W.; Smolders, C. A.; 1982, *Macromolecules*, *15*, 1491-1497
- [46]. Hau, C. C.; Prausnitz, J. M.; 1974, *Macromolecules*, *3*, 320
- [47]. Zaslavsky, B. Y.; *Aqueous Two-phase Partitioning*, **1994**, Marcel Dekker
  
- [48]. Gosting, L. J.; Kim, H.; Loewenstein, M. A.; Reinfelds, G.; Revzin, A.; *Rev. Sci. Instrum.* **1973**, *44*, 1602.
- [49]. Zeidler, M. E.; Albright, J. G.; Miller, D. G.; *Rev. Sci. Instrum.*, submitted.
- [50]. Miller, D. G.; Albright, J. G.; Mathew, R.; Lee, C. M.; Rard, J. A.; Eppstein, L. B.; *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 3885.
- [51]. Rard, J. A.; Albright, J. G.; Miller, D. G.; Zeidler, M. E.; *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1996**, *92*, 4187.
- [52]. Yang, M. C.; Albright, J. G.; Rard, J. A.; Miller, D. G.; *J. Solution Chem.* **1998**, *27*, 309.
- [53]. Kim, H.; *J. Phys. Chem.* **1970**, *74*, 4577.
- [54]. Huppert, H. E.; Hallworth, M. A.; *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 2902.

- [55]. Vitagliano, P. L.; Della Volpe, C.; Vitagliano, V.; *J. Sol. Chem.* **1984**, *13*, 549.
- [56]. Miller, D. G.; Vitagliano, V.; *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 1706.
- [57]. Vitagliano, P. L.; Ambrosone, L.; Vitagliano, V.; *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 1431.